

Herstellung funktioneller Hybride auf Basis von bakteriell synthetisierter Nanocellulose

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor-Ingenieur (Dr.-Ing.)



vorgelegt dem Rat der Physikalisch-Astronomischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von **Dipl.-Ing. Falko Wesarg**

geboren am **27.02.1983** in **Gera**

Gutachter

1. Prof. Dr.-Ing. habil. Frank A. Müller (FSU Jena)
2. Prof. Dr. rer. nat. habil. Georg Pohnert (FSU Jena)
3. Prof. Dr. rer. silv. habil. Cordt Zollfrank (TU München)

Tag der Disputation: 11.04.2013

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	3
2. Grundlagen	5
2.1. Struktureller Aufbau von Cellulose	5
2.2. Synthese von bakteriell synthetisierter Nanocellulose (BNC)	6
2.2.1. Prozesse im Rahmen der Biosynthese von BNC	7
2.2.2. Synthese von BNC in Standkultivierung	9
2.3. Eigenschaften von BNC	10
2.4. Anwendungspotential von BNC-Kompositen	11
2.5. Modifizierungstechniken von BNC	12
2.5.1. <i>In situ</i> -Modifizierung	12
2.5.2. <i>Post</i> -Modifizierung	13
2.6. Heterogene Photokatalyse	14
2.7. Antimikrobielle Aktivität von Silber	16
3. Experimentelle Durchführung	19
3.1. Herstellung von BNC und darauf aufbauender Hybride	19
3.1.1. Allgemeine Kultivierungsbedingungen der untersuchten Bakterienstämme der Gattung <i>Gluconacetobacter</i>	19
3.1.2. <i>In situ</i> -Modifizierung von BNC mit Anatas-Nanopartikeln zur Herstellung photokatalytisch aktiver Hybride	20
3.1.3. <i>Post</i> -Modifizierung von BNC mit Ag-Nanopartikeln zur Herstellung antimikrobiell wirksamer Hybride	21
3.2. Untersuchungsmethoden	22
3.2.1. Zeitabhängige Betrachtungen im Rahmen der Biosynthese	22
3.2.2. Chemisch-strukturelle Charakterisierung	24
3.2.3. Mechanische Charakterisierung	27
3.2.4. Spezielle Verfahren zur Eigenschaftscharakterisierung der funktionellen BNC-Hybride	29
4. Ergebnisse	34
4.1. Charakterisierung von BNC unterschiedlicher <i>Gluconacetobacter</i> -Stämme	34
4.1.1. Bildung von BNC	34
4.1.2. Chemisch-strukturelle Materialeigenschaften	35
4.1.3. Mechanische Eigenschaften von BNC	44

4.2. <i>In situ</i> -Herstellung photokatalytisch aktiver BNC-TiO ₂ -Hybride	50
4.2.1. Chemisch-strukturelle Materialeigenschaften	50
4.2.2. BNC-Bildung in Gegenwart von Anatas-Nanopartikeln	54
4.2.3. Mechanische Eigenschaften der BNC-TiO ₂ -Hybride	57
4.2.4. Photokatalytische Aktivität der Hybride	59
4.3. Antimikrobielle Aktivierung von BNC mittels <i>post</i> -Modifizierung	62
4.3.1. Nachweis der Modifizierungsschritte	62
4.3.2. Einfluss unterschiedlicher AgNO ₃ -Konzentrationen	64
4.3.3. Einfluss der Reaktionszeit in AgNO ₃	68
4.3.4. Mechanische Eigenschaften der Ag-BNC-Hybride	69
4.3.5. Antimikrobielle Eigenschaften der Hybride	70
5. Diskussion	73
5.1. Die Verwendung unterschiedlicher <i>Gluconacetobacter</i> -Stämme als <i>in situ</i> -Modifizierungsmöglichkeit von BNC	73
5.1.1. Chemisch-strukturelle Materialunterschiede aufgrund des Biosynthese-Prozesses	73
5.1.2. Einfluss der Morphologie auf die mechanischen Eigenschaften	75
5.2. <i>In situ</i> -Herstellung von photokatalytisch aktiven Hybriden auf Basis von BNC und Anatas-Nanopartikeln	79
5.2.1. BNC-Bildung in Gegenwart von Nanopartikeln	80
5.2.2. Verteilung der Nanopartikel im BNC-Hybrid	84
5.2.3. Photokatalytische Aktivität	85
5.3. <i>Post</i> -Modifizierung von BNC mit antimikrobiell wirksamen Silber-Nanopartikeln	87
5.3.1. Auswirkung der strukturellen Eigenschaften von BNC auf die <i>post</i> -Modifizierung	87
5.3.2. Beeinflussung der Nanopartikel-Ausbildung	90
5.3.3. Antimikrobielle Eigenschaften der Ag-BNC-Hybride	92
6. Zusammenfassung	95
Literaturverzeichnis	97
Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen und Symbole	108
Anhang	113

1. Einleitung

Eines der am häufigsten vorkommenden und wichtigsten natürlichen Polymere ist Cellulose.^{1,2} Schon seit Jahrtausenden findet dieses Biopolymer Verwendung als Baustoff, Nahrungs- und Futtermittel, chemischer Rohstoff sowie Brennstoff.^{1,2}

Es handelt sich um ein Polysaccharid, dessen Aufbau hauptsächlich im Rahmen der Photosynthese stattfindet. Dementsprechend bildet es den Hauptbestandteil von pflanzlichen Zellwänden und wird vorwiegend mit Pflanzen sowie Baumwolle assoziiert.³ Dennoch sind auch eine Vielzahl anderer eukaryotischer Organismen in der Lage, Cellulose zu synthetisieren.^{4,5,6} Zu diesen gehören beispielsweise Algen (Klasse: *Glaucophyceae*, *Rhodophyceae* und *Chlorophyceae*), Pilze (Art: *Dictyostelium discoideum* oder Gattung: *Saprolegnia*) und niedere Tiere (Unterstamm: *Tunicata*).^{7,8} Aber auch Prokaryoten, insbesondere Bakterien (Abteilung: *Proteobacteria*, *Firmicutes* und *Cyanobacteria*), sind fähig, Cellulose aus einer Kohlenstoff-Quelle aufzubauen.⁷

Interessanterweise zählen auch Cyanobakterien dazu, welche seit 3,5 Milliarden Jahren (*Archaikum*) auf der Erde zu finden sind und somit zu den ältesten Lebensformen zählen.⁴ In Verbindung mit der vielfältigen Verbreitung bei verschiedensten eukaryotischen und prokaryotischen Organismen verdeutlicht dies, dass es sich bei der Cellulose-Biogenese um einen frühen erdgeschichtlichen Prozess handelt.⁷

Dennoch dauerte es bis zum Jahr 1838, ehe A. Payen einen faserartigen Feststoff nach der chemischen Behandlung von Pflanzengewebe erstmals als Cellulose ($C_6H_{10}O_5$)_n beschrieb.^{2,9,10} Daran anschließende Durchbrüche in der industriellen Herstellung (z.B. Viskose-Verfahren, 1891) und der chemischen Modifizierbarkeit von Cellulose (z.B. Entwicklung von Celluloid, 1870) führten zu einer großen ökonomischen und technischen Bedeutung des Polysaccharids und zugleich zu einem steigenden Interesse an der Erforschung der Mechanismen der Biogenese.^{2,7,10}

Um Studien zur Cellulosestruktur, -reaktivität und deren Biogenese auf einem molekularen Level durchführen zu können, war es historisch sehr wichtig, Zugang zu einem biologischen Modellsystem zu haben, welches einfacher als bei Pflanzen war.¹¹ Da die grundlegende Molekularstruktur von Cellulose während der Evolution erhalten geblieben ist, bestand die Möglichkeit, Erkenntnisse von einfachen Organismen (z.B. Bakterien) auf die komplexeren Prozesse der Synthese bei höheren Organismen (z.B. Pflanzen) zu übertragen.^{5,11,12}

Die Bedeutung und Verwendbarkeit von bakteriell synthetisierter Nanocellulose (BNC) als extrazellulär gebildete Modellsubstanz für die Erforschung der Cellulose-Biogenese wurde bereits bei ihrer ersten Beschreibung von A.J. Brown (1886) erkannt.¹² Spätere Untersuchungen zeigten die besondere Eignung der Gattung *Gluconacetobacter* (ehemals *Acetobacter*, von A.J. Brown als „*Bacterium aceti*“ bezeichnet) als ausgewählten Vertreter der *Proteobacteria*.^{4,8,10,11,12,13,14}

Allerdings zeigten die Untersuchungen auch, dass sich BNC von pflanzlicher Cellulose, trotz chemischer Identität, deutlich unterscheidet.^{1,5,13,15} Pflanzliche Cellulose-Rohstoffe (z.B. Holz oder Baumwolle) müssen vor ihrer Verwertung aufwendigen mechanischen und chemischen Behandlungs-, Aufschluss- sowie Reinigungsverfahren unterzogen werden.^{10,16} Die damit verbundenen Veränderungen der molekularen und supramolekularen Struktur spiegeln sich in einem unkontrollierten Kettenabbau und in Veränderungen der kristallinen sowie amorphen Strukturbestandteile wider.¹⁰ Zudem führt der Einbau von Carbonyl- oder Carboxylgruppen sowie weiterer Begleitstoffe (Lignin, Hemicellulosen oder Pektin) zu beträchtlichen Problemen bei der anwendungsspezifischen Weiterverarbeitung.^{10,17}

Im Gegensatz dazu stellt BNC ein hochreines Material dar,^{1,5,8} das unmittelbar mit der Struktur verwendet werden kann, wie sie während der Biosynthese gebildet wurde.^{17,18} Das macht nachträgliche Reinigungsschritte unnötig. Des Weiteren können neben konventionellen *post*-Modifizierungstechniken, welche von pflanzlicher Cellulose bekannt sind,^{1,5} auch *in situ*-Techniken verwendet werden. Bei diesen besteht die Möglichkeit, während des strukturellen Aufbaus der BNC in den biotechnologischen Bildungsprozess einzugreifen, um das Material gezielt zu formen und zu modifizieren.⁵ Diese vielfältigen Modifizierungsmöglichkeiten haben in Verbindung mit den außergewöhnlichen nativen Eigenschaften des Biopolymers zu großem Interesse in verschiedenen Anwendungsbereichen geführt.^{1,8,15,17,18}

Das Ziel dieser Arbeit besteht darin, durch die Verwendung spezieller *in situ*- bzw. *post*-Modifizierungstechniken das Anwendungspotential von BNC gezielt zu erweitern.

Im Rahmen der *in situ*-Modifizierung wird untersucht, inwieweit die chemisch-mechanischen Materialeigenschaften von BNC durch die Wahl des Bakterienstamms während der Synthese beeinflusst werden können. Darüber hinaus soll ein Verfahren entwickelt werden, um photokatalytisch aktive Anatas-Nanopartikel während der Biosynthese in BNC zu integrieren. Bei der Anwendung des *post*-Modifizierungsverfahrens wird BNC als dreidimensionale Trägerstruktur herangezogen, um diese mit antimikrobiell wirksamen Silber-Nanopartikeln zu modifizieren.

2. Grundlagen

2.1. Struktureller Aufbau von Cellulose

Das Polysaccharid Cellulose setzt sich durch die kovalente Verknüpfung von β -D-Glucopyranose-Molekülen unter intermolekularer Acetalbildung zwischen der äquatorialen Hydroxy-Gruppe an C4 und dem Kohlenstoffatom C1 zusammen (β -1,4-Glucan, Abb.1).^{10,13,19} Ihre Repetier-Einheit ist β -Cellobiose, bestehend aus zwei Anhydro-Glucose-Einheiten (AGU), die zueinander um 180° entlang der Längsachse gedreht sind.¹⁰

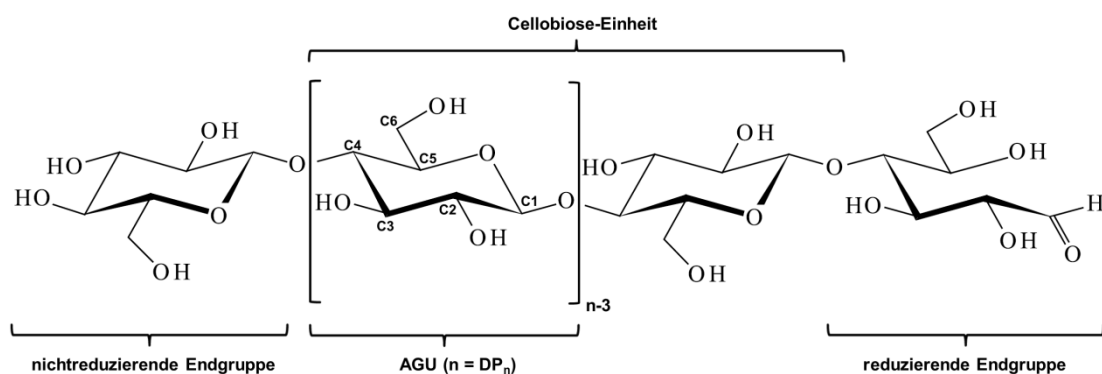


Abb.1: Molekularstruktur von Cellulose und die Positionen der 6 Kohlenstoffatome je AGU (C1 bis C6).^{3,20}

Das Ergebnis ist ein aus Cellobiose linear aufgebautes isotaktisches Homopolymer mit einer großen Anzahl von Hydroxy-Gruppen. In jeder AGU befinden sich 3 Hydroxy-Gruppen (C2-, C3- und C6-Position). Die Steifheit der Cellulose-Ketten wird durch inter- und intramolekulare Wasserstoffbrücken bestimmt.^{10,20,21,22} Der Ausschnitt des Wasserstoffbrücken-Systems in Abbildung 2 zeigt die intramolekularen Brücken an den Positionen O3H - O5 und O2H - O6 (rot) sowie die intermolekulare Brücke an der Position O6H - O3 (grün).^{20,21,22} Alle Hydroxy-Gruppen sind in der Lage die typischen Reaktionen von primären (C6) und sekundären (C2 und C3) Alkoholen einzugehen, wobei die primäre OH-Gruppe an C6 am zugänglichsten für Reaktionen ist. Die Kettenenden der Cellulose tragen jeweils eine D-Glucopyranose-Einheit mit originärer OH-Gruppe an C4 (nichtreduzierende Endgruppe) und eine im Gleichgewicht stehende Einheit (Aldehyd-Struktur, reduzierende Endgruppe).^{10,16}

Als Folge des ausgeprägten Netzes von Wasserstoffbrücken und der linearen Molekularstruktur, besitzt Cellulose die Möglichkeit, sich zu hochgeordneten Strukturen mit hohen Polymerisations- und Kristallisationsgraden anzuordnen.^{10,15,19} Für Cellulose sind sechs strukturelle Polymorphe bekannt, wobei in der Natur hauptsächlich die native Modifikation Cellulose I vorkommt.²⁰ Je nach Herkunft der Cellulose können die beiden

Allomorphe I_α und I_β in charakteristischen Anteilen vorliegen (für beide parallellaufende Cellulose-Ketten).²⁰ Bei Verwendung eines Ein-Ketten-Modells mit einer triklinen Elementarzelle und nur einer Cellobiose-Einheit in der Zelle ergibt sich die Modifikation I_α , wohingegen im Zwei-Ketten-Modell mit einer monoklinen Elementarzelle (zwei Cellobiose-Einheiten in der Zelle) die Modifikation I_β resultiert.^{10,23} Während die I_α -Modifikation vornehmlich bei Cellulose von einfachen Organismen anzutreffen ist (z.B. BNC), findet sich in pflanzlicher Cellulose überwiegend die Modifikation I_β .^{10,23}

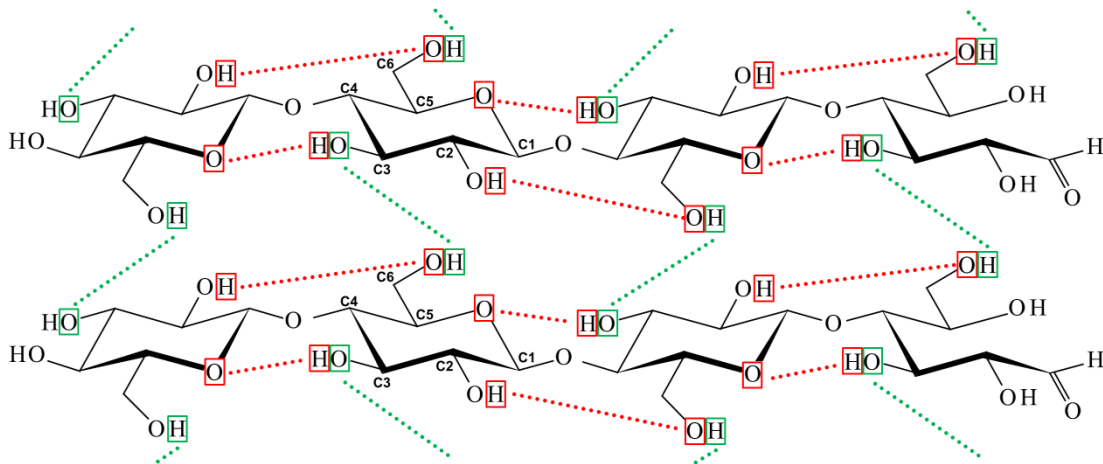


Abb.2: Schematische Darstellung der auftretenden intermolekularen (grün) und intramolekularen (rot) Wasserstoffbrückenbindungen für den in BNC vorwiegend anzutreffenden Allomorph I_α .^{21,22}

2.2. Synthese von bakteriell synthetisierter Nanocellulose (BNC)

Der Celluloseaufbau kann auf verschiedene Weisen stattfinden.¹⁰ Im Rahmen biotechnologischer Prozesse kann dies effizient durch Bakterien der Gattung *Gluconacetobacter* (ehemals *Acetobacter*) erfolgen. Diese Mikroorganismen gehören zur Familie *Acetobacteraceae*. In der Natur sind *Acetobacteraceae* weit verbreitet und überall dort zu finden, wo Zucker und pflanzliche Kohlenhydrate vergären (z.B. bei Früchten, Blumen, nichtpasteurisiertem Wein oder Bier).^{1,10}

Die Gattung *Gluconacetobacter* umfasst gramnegative, obligat aerobe Bakterien, welche ellipsoidale, gerade oder schwach gekrümmte Stäbchenformen besitzen (Abb.3).⁶ Ihre Länge beträgt etwa 1,0 - 4,0 μm bei einer Dicke von 0,6 - 0,8 μm .¹⁰ Arten der Gattung *Gluconacetobacter* sind beispielsweise *G. xylinus*, *G. hansenii* (GH), *G. aceti*, *G. liquifaciens*, *G. pasteurinis*, *G. europaeus*, *G. oboediens* und *G. intermedius*.^{6,13} Dabei ist *Gluconacetobacter xylinus* (GX) durch die Verwendung als Modellmikroorganismus für die Cellulose-Biogenese und im Rahmen von Scale-up-Prozessen am umfassendsten untersucht.^{5,6,13,17}

Dies liegt darin begründet, dass diese Bakteriengattung nicht pathogen ist und ihre Kultivierung schnell und unter kontrollierbaren Bedingungen in Form von Vliesen

erfolgen kann.⁵ Darüber hinaus können eine Vielzahl von Kohlenstoff-Quellen verwertet und im Rahmen dieses biotechnologischen Prozesses hohe Ausbeuten erreicht werden (35 - 40 %).^{1,6,24}

2.2.1. Prozesse im Rahmen der Biosynthese von BNC

Die von GX als Exopolymer gebildete BNC ist ein Stoffwechselprodukt, welches im Rahmen eines biotechnologischen Aufbauprozesses von niedermolekularen Kohlenstoff-Quellen gewonnen wird (Abb.3).^{1,24} Der biochemische Weg der Cellulose-Synthese aus Glucose ist in den Kohlenstoff-Metabolismus integriert und enthält 5 fundamentale Enzym-Katalyse-Schritte.^{5,6,13}

1. Extrazelluläre Glucose wird mittels Glucosepermease durch die Zellmembran in die Zelle transportiert,
2. Glucose wird durch Glucokinase zu Glucose-6-phosphat phosphoryliert,
3. Phosphoglucomutase wandelt Glucose-6-phosphat in Glucose-1-phosphat um,
4. Uridindiphosphat-Glucose-pyrophosphorylase wandelt Glucose-1-phosphat in Uridindiphosphat-Glucose (UDP-Glucose) um,
5. Cellulosesynthase addiert UDP-Glucose an das Ende der wachsenden Polysaccharid-Kette.

Der letzte Schritt des Kohlenstoff-Metabolismus erfolgt in der Cytoplasma-Membran und entspricht einer schrittweisen Polymerisation infolge des Anhängens von Monomer-Einheiten an das Ende der wachsenden Cellulose-Kette (β -1,4-Glucan-Kette).^{6,10,25} Das so gebildete Polymer wird über einen cellulose-synthetisierenden Komplex (terminal complex, TC), welcher zwischen der äußeren Membran und der Cytoplasma-Membran der Bakterienzelle zu finden ist (Abb.3), ausgeschieden.¹⁰ Der TC ist mit je einer an der Oberfläche des Bakteriums befindlichen Pore (3 - 5 nm) verbunden.⁶ Etwa 50 bis 80 Poren sind linear und längs zur Bakterienachse angeordnet.^{5,7,11,26,27} Etwa 9 bis 15 amorphe und nicht unterscheidbare Glucan-Ketten werden aus einer Pore extrudiert (Abb.3).^{5,11,19,23} Diese werden als Elementarfibrillen (1,5 nm) bezeichnet und sind wasserunlöslich.^{5,6} Die Elementarfibrillen sind zu dünn um zu kristallisieren. Jedoch bewirkt die parallele Anordnung der Poren, dass lokale Ungleichheiten zur spontanen Kristallisation durch Selbstorganisation führen. Diese Aggregation wird hauptsächlich durch Wasserstoffbrückenbindungen hervorgerufen.^{15,23} So erfolgt in der Nähe der äußeren Membran aufgrund der regulären Porenanordnung eine schrittweise extrazelluläre Organisation zu Mikrofibrillen,^{6,24} obwohl ein Teil des Extrudats noch in Kontakt mit der Zelle ist.¹¹ Die Anordnung der Poren führt zudem dazu, dass hauptsächlich Cellulose der Modifikation I_α entsteht.⁷ Der Zusammenhalt der 3 bis 7 nm

breiten, wasserfreien und hochkristallinen Mikrofibrillen wird durch Wasserstoffbrückenbindungen aber auch durch nichtkristalline Cellulose-Ketten erhalten.^{15,28}

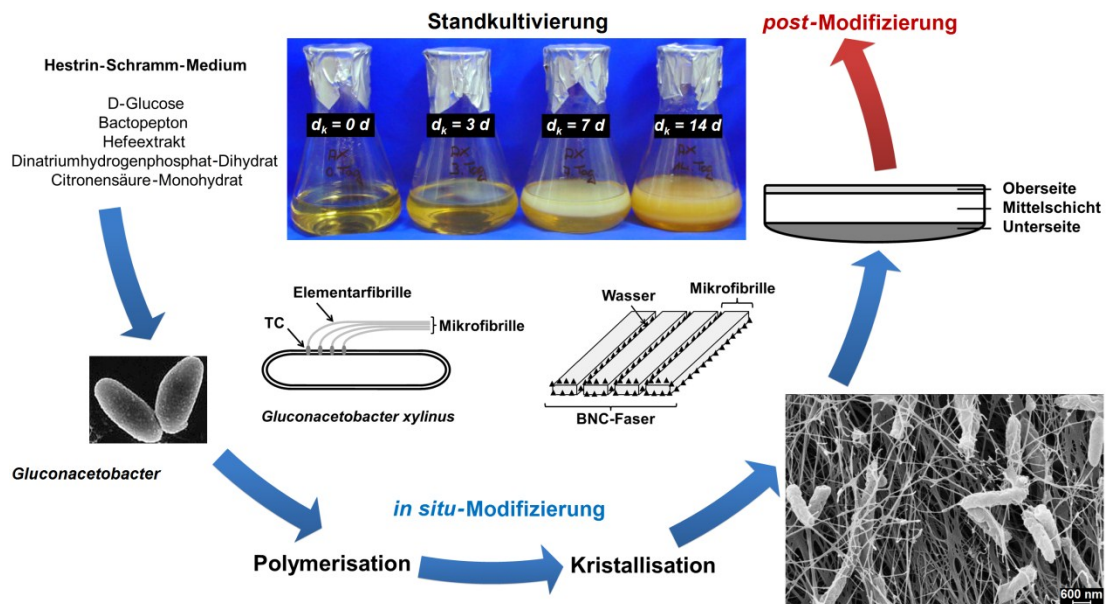


Abb.3: Schematische Darstellung der prinzipiellen Entstehungsschritte von BNC durch GX sowie die Möglichkeiten durch *in situ*- oder *post*-Modifizierungen Einfluss auf die (supra-)molekulare Struktur zu nehmen.^{10,25,28,29,30} Der Bildungsprozess eines BNC-Vlieses während der Standkultivierung im Erlenmeyerkolben nach den Kultivierungszeiten $d_k = 0, 3, 7$ und 14 d (v.l.n.r.).^{25,30} Eine rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der im Vlies eingebundenen Bakterienzellen und der charakteristische anisotrope Vlies-Aufbau, der während der Standkultivierung entsteht.³⁰

Polymerisation und Kristallisation führen zur Bewegung der immobilisierten Bakterienzellen,⁶ welche von Brown Jr. *et al.* erstmals beschrieben und bei einer Temperatur von 24°C mit $4,5\text{ }\mu\text{m/min}$ angegeben wurde.⁷ Diese Bewegung ist Ergebnis einer Gegenkraft, die bei der Polymerisation und Kristallisation entsteht und entgegengesetzt zur Extrusionsrichtung wirkt.⁵ Zudem rotiert die Zelle um ihre eigene Längsachse.⁷

Als Folge der Zell-Bewegung lagern sich benachbarte Mikrofibrillen zu BNC-Fasern zusammen.^{3,19} Während dieses Organisationsprozesses sind die Mikrofibrillen durch ihre große spezifische Oberfläche bzw. durch ihre große Anzahl an Hydroxy-Gruppen in der Lage, intensiv mit ihrer Umgebung zu interagieren.¹⁵ Dadurch werden große Wassermengen in Form von Solvathüllen um die Mikrofibrillen sowie um die entstehenden BNC-Fasern integriert (Abb.3).²⁸ Die Dimension der BNC-Fasern im nativen (*never-dried*) Zustand beträgt dementsprechend $70 - 150\text{ nm}$, wohingegen diese durch Trocknungsprozesse auf 40 bis 60 nm reduziert wird (Abb.3 und Abb.4b).^{6,19,28}

Neben der Integration von Wasser in Form von Solvathüllen, wird durch das Poren- und Tunnelsystem der supramolekularen Struktur eine große Menge Wasser eingebaut. Als Konsequenz des hierarchisch aufgebauten dreidimensionalen Exopolymer-Netzwerks

entsteht ein stark gequollenes, formstabiles Hydrogel mit einem Wassergehalt von bis zu 99 %.^{1,6,10,24,28}

2.2.2. Synthese von BNC in Standkultivierung

Erfolgt die BNC-Herstellung in einem Kultivierungsgefäß ohne äußere Beeinflussung, wird von einer Standkultivierung gesprochen.^{5,12} Das am häufigsten verwendete Kultivierungsmedium unter statischen Bedingungen stellt das komplexe Hestrin-Schramm-Medium (HSM) dar, in dem D-Glucose als Kohlenstoff-Quelle und Bactopepton als Stickstoff-Quelle fungieren (Abb.3).²⁹ Zudem enthält es Hefeextrakt, um den Mikroorganismen die für deren Lebenszyklus erforderlichen Nährstoffe (Vitamine) zu liefern. Citronensäure-Monohydrat und Dinatriumhydrogenphosphat-Dihydrat sind Bestandteile des McIlvaine-Puffersystems, welches dem nichtautoklavierten Kultivierungsmedium einen pH-Wert zwischen 6,0 und 6,3 verleiht.

Im HSM sind Bakterienstämme der Art GX am produktivsten.¹³ Der optimale Temperaturbereich reicht von 25°C bis 29°C.^{1,6} Unter diesen biotechnologischen Bedingungen wird BNC innerhalb einer Kultivierungszeit von 14 Tagen schrittweise an der Grenzfläche zwischen Luft und Kultivierungsmedium in Form eines Biofilms (Vlies) aufgebaut (Abb.3).^{1,30,31}

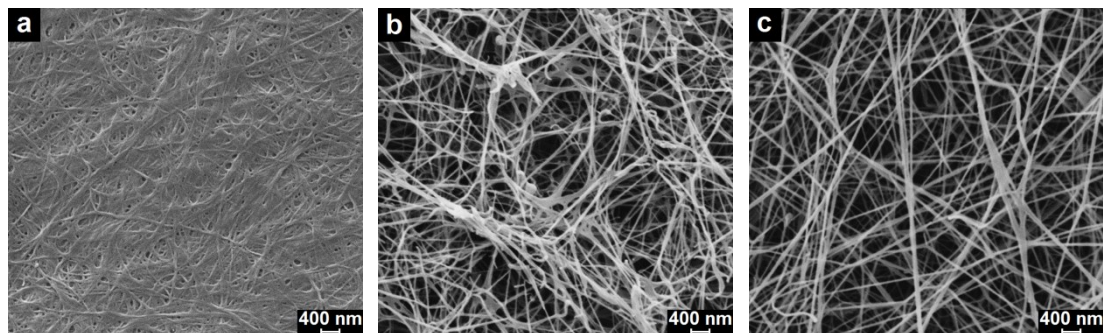


Abb.4: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von a) der obersten Schicht (Oberseite), b) der Mittelschicht (Querschnitt) und c) von der untersten Schicht (Unterseite) eines gefriergetrockneten BNC-Vlieses bei 5000-facher Vergrößerung.

Am Beginn der Synthese steht die Beimpfung des Kultivierungsmediums mit dem Bakterienstamm. Als initialer Syntheseschritt wird das Wachstum der Bakterienpopulation angesehen.³² Innerhalb dieser Periode (1. bis 2. Kultivierungstag) verbrauchen die aeroben Bakterien den im Kultivierungsmedium gelösten Sauerstoff und produzieren eine kleine Menge BNC. Darin eingebunden, gelangen sie an die Grenzfläche zwischen Luft und Kultivierungsmedium.¹¹ Grund für das Aufsteigen ist der Auftrieb, den das gelartige Vlies erfährt, obwohl die Dichte von Cellulose größer ist als die von Wasser. Ursache ist die Integration von Kohlenstoffdioxid in das Vlies, welcher während des Kohlenstoff-Metabolismus entsteht.^{11,33}

In einem Folgeschritt vermehrt sich die Population unter Sauerstoffzugang weiter und führt den Vlies-Aufbau fort.³³ Damit verbunden ist die Zunahme der Schichtdicke bzw. der Cellulose-Masse, wodurch das Vlies gleichmäßig in das Kultivierungsmedium einsinkt. Der Kontakt zwischen Cellulose, Bakterien und Kultivierungsmedium bleibt dabei erhalten (2. bis 8. Kultivierungstag).^{30,32} Dabei müssen die Komponenten des Kultivierungsmediums durch das Vlies an die Grenzfläche diffundieren. Durch deren Verbrauch (sinkender Konzentrationsgradient) verlangsamt sich die BNC-Synthese und kommt schließlich vollständig zum Erliegen (9. bis 14. Kultivierungstag).^{30,34}

Der beschriebene Aufbau-Mechanismus führt zu einer anisotropen, schichtweisen supramolekularen Struktur des Vlieses (Abb.3).³⁰ Die rasterelektronenmikroskopische Aufnahme in Abb. 4b zeigt die typische nanofibrillare Struktur und hohe Porosität des BNC-Faser-Netzwerks in der Mittelschicht des Vlieses. Dahingegen unterscheiden sich die Ober- (Abb.4a) und die Unterseite (Abb.4c). Der längere Luftkontakt der Vlies-Oberseite an der sauerstoffreichen Grenzfläche verursacht BNC-Faser-Aggregationen, die zu einer deutlich reduzierten Porosität führen.³⁰ Die sehr weitverzweigte und lose Struktur der Unterseite entspricht einem weniger organisierten Rest des gelartigen Vlieses, welches innerhalb der ersten Kultivierungstage entstanden ist.³⁰

2.3. Eigenschaften von BNC

BNC ist chemisch betrachtet identisch mit pflanzlicher Cellulose (Abb.1).^{1,6,11} Jedoch unterscheidet sie sich aufgrund des spezifischen Biosynthese-Prozesses grundsätzlich und wesentlich von pflanzlicher Cellulose.^{1,5,13,15} Die BNC-Faserdurchmesser von etwa 40 - 60 nm entsprechen einem Hundertstel von dem einer pflanzlichen Baumwoll- oder Zellstoff-Faser.^{11,13,15,17,30,35,36} Dadurch entsteht ein nanostrukturiertes Netzwerk mit großer spezifischer Oberfläche (60 - 100 m²/g), welches eine intensive Wechselwirkung mit dessen Umgebung erlaubt.^{1,15,37} Es kann eine sehr große Wassermenge aufgenommen werden (Wassergehalt: 99 %). Als Folge entsteht ein Hydrogel, welches zudem durch eine hohe Formstabilität (hohes Wasserrückhaltevermögen) charakterisiert ist.^{1,8}

Neben der Nanofaser-Architektur zeichnet sich BNC durch eine hohe Reinheit (enthält keine Hemicellulose oder Lignin), einen hohen Polymerisationsgrad (2000 - 8000) und einen hohen Kristallinitätsgrad (60 - 90 %) aus.^{1,5,8,13,15,19,37} Diese begründen andere, zum Teil außergewöhnliche Materialeigenschaften wie eine hohe chemische und thermische Stabilität, Biokompatibilität und Bioinertheit sowie eine hohe mechanische Stabilität im *never-dried* Zustand.

Vor allem die mechanischen Eigenschaften basieren auf den strukturell-chemischen Eigenschaften der BNC-Fasern.^{15,38,39,40,41} So konnte im Rahmen von

rasterkraftmikroskopischen Untersuchungen ein Elastizitätsmodul (E) von 134 GPa bestimmt werden.^{10,42} Das entspricht einem Modul, der sich im Bereich von Gusseisen (Grau-Guss: $E = 90 - 140$ GPa, Sphäroguss: $E = 160 - 170$ GPa), Kupfer-Legierungen ($E = 100 - 150$ GPa) oder Aramid-Fasern (Kevlar 49: $E = 131$ GPa) bewegt. Zudem ist dieser deutlich höher als der von anderen nativen Cellulose-Fasern (Baumwolle: $E = 5,5 - 13$ GPa, Ramie: $E = 22$ GPa, Hanf: $E = 33$ GPa, Jute: $E = 26$ GPa oder Flachs: $E = 27$ GPa).^{43,44,45}

Die Zugfestigkeit (R_m) einer BNC-Einzelfaser wird in der Literatur mit 2 GPa angegeben.^{10,42,46} Diese Festigkeit ist vergleichbar mit Werten von einigen Edelstahl-Arten (z.B. AK Steel 17-7 PH: $R_m = 1,3 - 1,5$ GPa) oder anderen Fasermaterialien (E-Glas: $R_m = 2 - 3$ GPa, Aramid: $R_m = 3 - 4$ GPa).^{42,43,44,46} In Gegenüberstellung mit den nativen Cellulose-Fasern Baumwolle ($R_m = 285 - 600$ MPa), Ramie ($R_m = 890$ MPa), Hanf ($R_m = 710$ MPa), Jute ($R_m = 470$ MPa) oder Flachs ($R_m = 810$ MPa) besitzt BNC ebenfalls deutlich höhere Festigkeiten.^{24,44,45}

2.4. Anwendungspotential von BNC-Kompositen

In Folge des außergewöhnlichen Eigenschaftsprofils wurden in den letzten Jahren verschiedenste Anwendungsfelder für BNC vorgeschlagen und deren Anwendbarkeit überprüft.^{47,48} Vor allem die Nanodimension der BNC-Fasern, welche eine große Faseroberfläche und daher eine intensive Wechselwirkung mit dem umgebenden Medium bedingen, machen BNC als Matrix für die Herstellung von Nanokompositen hochinteressant.⁴⁹ In diesem Zusammenhang können beispielsweise Interaktionen mit Wasser und anderen niedermolekularen Verbindungen, deren funktionelle Gruppen aktiv Wasserstoffbrückenbindungen bilden, ausgenutzt werden.¹ Aber auch die Fixierung von organischen und anorganischen Nanopartikeln an das BNC-Fasernetzwerk sind zu berücksichtigen.^{1,15} Dementsprechend existiert ein breites potentiell Anwendungsspektrum.

Einige Beispiele für medizinische Produktideen beinhalten Wundauflagen für die Behandlung von Brandwunden und chronischen Wunden,^{8,48,50} Scaffolds für das Tissue Engineering von Gelenkknorpel,^{51,52} Gefäßersatzmaterialien,^{15,30} Drug-Delivery-Systeme^{1,53} oder Trägersysteme für die Immobilisierung von Enzymen oder Biomolekülen.^{17,54}

Aber auch eine technische Anwendung als elektrisch leitfähiges Papier (Kohlenstoff-Nanoröhren),^{1,8} lumineszierender Sensor (CdS),^{8,55} magnetische Membran (eisenhaltiges Silber),⁵⁶ Biosensor (Gold),⁵⁴ Protonenaustauschmembran-Brennstoffzelle (Platin),⁵⁷ Lautsprechermembran^{6,11} oder (photo-)katalytisch aktive Membran (TiO₂ oder CdS)^{58,59,60} sind laut Literatur potentiell denkbar.

2.5. Modifizierungstechniken von BNC

Um die strukturellen, optischen, mechanischen, elektrischen, magnetischen oder medizinischen Eigenschaften von BNC gezielt zu verändern, besteht generell die Möglichkeit, das Material während der Synthese (*in situ*) oder nach der Synthese des Vlieses (*post*) zu modifizieren (Abb.3).²⁵

2.5.1. *In situ*-Modifizierung

BNC, als extrazellulär synthetisiertes Polymer, ist ein metabolisch inertes Endprodukt des Kohlenstoff-Metabolismus und stellt keinen Auswuchs der Zellwand wie bei Pflanzen dar.^{5,28} Durch die schrittweise Polymerisation und extrazelluläre Selbstorganisation (Kristallisation) der Elementarfibrillen (Abb.3) besteht ein Zugang, direkt während des Bildungsprozesses auf die molekulare und supramolekulare Organisation Einfluss zu nehmen (Abb.3).^{5,11,25,28}

Die grundlegendste Modifizierung liegt in der Wahl der Synthesebedingungen. Denn sowohl die Geometrie des Kultivierungsgefäßes, die Umgebungsbedingungen, die Kultivierungsart oder die Zusammensetzung des Kultivierungsmediums bewirken eine Beeinflussung der Biosynthese.^{1,13,24} Zudem haben die Ergebnisse bei der Verwendung von GX als Modellorganismus gezeigt, dass die Wahl des Bakterienstamms ebenfalls einen starken Einfluss auf die Netzwerkmorphologie hat.^{1,15,25} Je nach verwendetem Bakterienstamm können die chemisch-strukturellen Eigenschaften, welche die Porosität, die Fasergestalt, die Kristallinität sowie den Polymerisationsgrad umfassen, trotz gleicher Herstellungsbedingungen stark variieren.^{1,15,30,48,61}

Eine weitere Möglichkeit der *in situ*-Modifizierung stellt die Zugabe von Additiven zum Kultivierungsmedium dar. Deren Präsenz im Medium führt sowohl auf molekularer als auch auf supramolekularer Ebene zu Veränderungen, welche sich in veränderten Materialeigenschaften widerspiegeln.^{25,62}

In diesem Zusammenhang wurde gezeigt, dass organische Substanzen wie Glycerin, β -Cyclodextrin oder Polyethylenglycol 400 die Ausbildung der BNC-Morphologie beeinflussen.^{1,25} Nach der Synthese sind diese aus dem Material entfernbar. Aber auch andere Polysaccharide wie Methylcellulose, Carboxymethylcellulose oder Hydroxypropylmethylcellulose haben Auswirkungen auf die Netzbildung.^{8,25,63} Durch deren Einlagerung beeinflussen sie das Porensystem und die daraus resultierenden Eigenschaften (z.B. Wasseraufnahme- und Wasserrückhaltevermögen). Weiterhin lassen sich auch Feststoffe als Additive verwenden, die während des Herstellungsprozesses in die BNC-Trägerstruktur integriert werden. Über die *in situ*-Integration von anorganischen Nanopartikeln (z.B. SiO_2 , CaCO_3 , Hydroxylapatit, Al oder Fe) und Kohlenstoff-Nanoröhren in das BNC-Netzwerk existieren bereits einige Untersuchungen.^{64,65,66,67} Die Verwendung der funktionalen Partikel führt zur

Erweiterung der nativen BNC-Eigenschaften. Beispielsweise konnte nach dem Einbau von Hydroxylapatit eine verbesserte Zellviabilität nachgewiesen werden.⁶⁷ Darüber hinaus können die Nanopartikel auch eine Verbesserung der bestehenden Materialeigenschaften bewirken. Die Integration von SiO₂-Nanopartikeln führt beispielsweise zur Erhöhung der Zugfestigkeit.⁶⁵

2.5.2. *Post-Modifizierung*

Die nachträgliche Behandlung von BNC stellt die einfachere Modifizierungsvariante dar.⁸ Die natürlich vorgegebene BNC-Morphologie wird auf diesem Weg durch chemische Nachbehandlungsschritte verändert. Einerseits können Komposite mit Substanzen hergestellt werden, welche während der Synthese toxisch oder antimikrobiell wirksam sind. Andererseits können viele Techniken, welche von Regenerat-Cellulose bekannt sind, übertragen werden.^{1,5}

Im Rahmen der *post*-Modifizierung können ebenfalls Substanzen organischen bzw. anorganischen Ursprungs verwendet werden. Zudem erlauben nachgestellte chemische Reaktionen eine Vielzahl von BNC-Variationen. Beispielsweise können durch die Infiltration von Monomer-Lösungen und deren anschließender Polymerisation (z.B. Poly-Acrylat, Poly-Methacrylat, Epoxid-Harz oder Phenol-Harz) interpenetrierende Polymernetzwerke hergestellt werden.^{46,68} Aber auch eine Vernetzung von Polysacchariden (z.B. Gelatine) in Gegenwart von BNC kann verwendet werden, um Doppelnetzwerke zu synthetisieren.⁶⁹ Dies ermöglicht den Zugang zu Materialien, welche Eigenschaften besitzen, die vergleichbar mit denen von synthetischen Polymeren sind.

Darüber hinaus besteht die Modifizierungsmöglichkeit mit anorganischen Substanzen, die zur Funktionalisierung von BNC eingesetzt werden können. So wurden elektrisch leitfähige Komposite auf Basis von BNC hergestellt, die durch Magnetron-Sputtern mit Indiumzinnoxid beschichtet wurden.⁷⁰ Andere Ansätze untersuchten die Infiltration und Adsorption von Kohlenstoff-Nanoröhren an BNC-Fasern oder die chemische Reduktion von Metall-Ionen zu Palladium, Silber oder Gold (aus Hexachloro-Palladat, Silbernitrat bzw. Tetrachloridogoldsäure).^{54,71,72,73} Im Falle des Silbers kann dessen antimikrobielle Aktivität gezielt für medizinische Anwendungszwecke verwendet werden.^{35,47} Die Integration von Fe₃O₄ (z.B. solvothermal oder durch die Abscheidung von adsorbierten Eisen-Ionen) oder Nickel (z.B. Reduktion von Nickelchlorid-hexahydrat) führt zu Materialien mit ferro- oder superparamagnetischen Eigenschaften.^{74,75,76,77}

BNC wurde auch als Katalysatorträger vorgeschlagen. In diesem Zusammenhang wurden durch die Reduktion von Hexachloro-Platinat oder durch die Hydrolyse von Titanetra(2-propanolat) Komposite mit elektrokatalytisch aktivem Platin⁵⁷ bzw. photokatalytisch aktivem TiO₂ für spezielle Katalyse-Anwendungen modifiziert.^{59,78}

2.6. Heterogene Photokatalyse

Der Begriff Photokatalyse wird in der Literatur sehr vielfältig verwendet und auf unterschiedliche Weisen definiert.^{79,80,81} Die Vielzahl der Begriffserklärungen beruht jedoch bei allen auf der Rolle, die den Photonen im Rahmen des katalytischen Prozesses zukommt. Eine einfache Definition bezeichnet Photokatalyse als eine Photoreaktion, welche durch die Einwirkung eines Katalysators beschleunigt wird.⁸¹ Der Katalysator und der Reaktant bestehen in diesem Zusammenhang vorwiegend aus zwei verschiedenen Phasen (fest-flüssig, fest-gasförmig oder flüssig-gasförmig).⁸¹ Die photo-induzierten Reaktionen laufen dementsprechend an deren Grenzflächen ab, weswegen in solchen Fällen auch von heterogener Photokatalyse gesprochen wird.^{80,81}

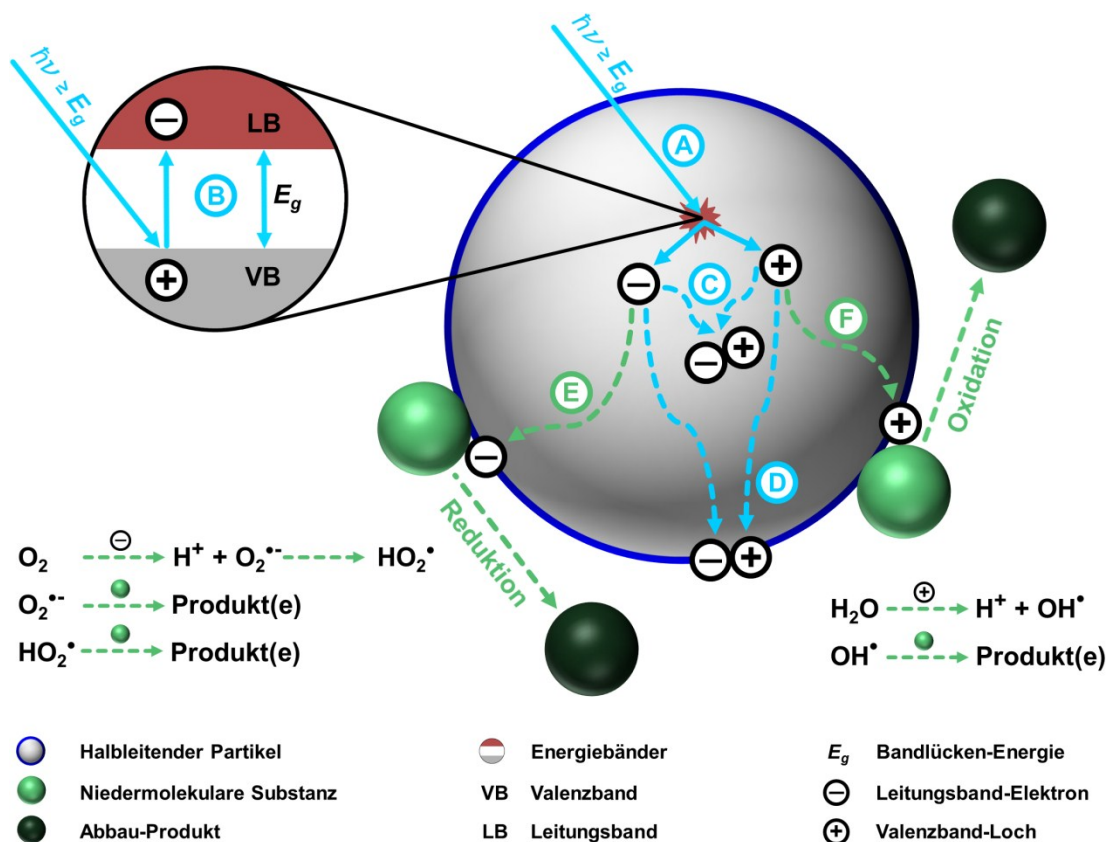


Abb.5: Schematische Darstellung der möglichen photo-physikalischen^{80,82,86} und photo-chemischen^{83,85,88} Prozesse in einem durch Photonen angeregten Halbleiter-Partikel in wässriger Lösung und unter Sauerstoff-Zutritt.

Als Photokatalysatoren haben sich Halbleiter etabliert. Zu typischen Chalkogenid-Vertretern sind Oxide (z.B. TiO_2 , ZnO , ZrO_2 , CeO_2 , Fe_2O_3 und WO_3) oder Sulfide (z.B. CdS , ZnS und MoS_2) zu zählen.^{83,84,85} Grundlage bildet deren elektronische Struktur.^{80,81,86} Sie besitzen neben lokalisierten Atomorbitalen Kristallorbitale, die als Energiebänder den Festkörper durchziehen. In diesen Bändern sind die Energiezustände der Elektronen konzentriert und delokalisiert. Wie in einem Molekül

befinden sich für die Besetzung mit Elektronen verbotene Zonen zwischen den lokalisierten Orbitalen und den Energiebändern. Diese Bandlücken erstrecken sich vom höchsten besetzten Energieband (Valenzband) bis zum niedrigsten unbesetzten Energieband (Leitungsband).

Im Rahmen des photokatalytischen Prozesses trifft ein energiereiches Photon, dessen Energie ($\hbar\nu$) mindestens der Bandlücken-Energie E_g des Halbleiters entspricht (Abb.5: A), auf die Oberfläche des Katalysators. Dessen Energie, welche oftmals im ultravioletten (UV) Wellenlängenbereich liegt, wird absorbiert (Abb.5: B).^{82,83,84} Ein Elektron wird aus dem Valenzband (VB) in das Leitungsband (LB) des Halbleiters, in dem ein Loch zurückbleibt, angehoben. Das räumlich voneinander getrennte Elektron-Loch-Paar, dessen Lebensdauer im Nanosekunden-Bereich liegt, kann verschiedene Reaktionen eingehen.^{82,85} Für einen effizienten Photokatalysator sollten Reaktionen mit adsorbierten, niedermolekularen Substanzen stattfinden (Abb.5: E und F). Das Elektron kann mit Elektronen-Akzeptoren reagieren (Abb.5: E), wohingegen das Loch mit Elektronen-Donatoren reagieren kann (Abb.5: F). Konkurrenz-Reaktionen zur Reduktion und Oxidation stellen die Oberflächenrekombination (Abb.5: D) und die Rekombination im Inneren des Halbleiters dar (Abb.5: C), in deren Rahmen Energie in Form von Wärme freigesetzt wird.^{80,83,85}

Bei den Abbau-Reaktionen von Schadstoffen wird oftmals postuliert, dass diese in wässrigen Nanopartikel-Suspensionen und unter Sauerstoffzutritt stattfinden.^{82,85,86} Der Hauptgrund ist darin zu suchen, dass ein Großteil der Untersuchungen die Wasserreinigung zum Ziel haben.⁸³ In diesem Zusammenhang erfolgt der photokatalytische Abbau hauptsächlich über den Angriff von Hydroxyl-Radikalen (OH^\bullet).^{85,86,87}

Abbildung 5 stellt die typischen Reaktionsschritte dar, die für die Reduktion des Elektronen-Akzeptors und die Oxidation des Elektronen-Donators an der Halbleiter-Oberfläche des wasserbedeckten Nanopartikels ablaufen. Wasser (H_2O) ist ein Elektronen-Donator, der mit den entstandenen positiven Ladungen aus dem Valenzband zu OH^\bullet reagiert. Die Hydroxyl-Radikale ihrerseits sind in der Lage, mit organischen Substanzen (Abb.5: hellgrüne Kugel) zu reagieren und diese zu oxidieren, wobei ein oder mehrere Produkte gebildet werden (Abb.5: dunkelgrüne Kugel). Dieser Schritt gilt als Einleitung des photokatalytischen Abbaus. Als Akzeptormolekül dient Sauerstoff (O_2). Es nimmt ein Elektron aus dem Leitungsband auf und wird zum Superoxid-Anion-Radikal (O_2^\bullet) reduziert. Das Superoxid-Anion-Radikal hat nun die Möglichkeit, mit organischen Molekülen (Abb.5: hellgrüne Kugel) zu reagieren oder unter Einfluss von Protonen (H^+) das Hydroperoxy-Radikal zu bilden (HO_2^\bullet). Dieses Radikal besitzt ebenfalls die Fähigkeit, mit organischen Molekülen zu reagieren (Abb.5: dunkelgrüne Kugel).

2.7. Antimikrobielle Aktivität von Silber

Die Verwendung von Silber (Ag) als Konservierungshilfsmittel und Antiseptikum ist seit Jahrtausenden bekannt.^{35,89,90} Schon die Ägypter, Griechen und Römer verwendeten silberhaltige Materialien zur Konservierung von Wasser und Nahrungsmitteln.⁹¹ Im Rahmen der Wundversorgung wurden Silbersalze zur Wundreinigung und Silberfäden als Nahtmaterial verwendet.^{35,91} Bis heute wurde für Silber eine antifungale (z.B. Arten *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Trichophyton mentagrophytes* oder *Penicillium citrinum*), antivirale (z.B. *Hepatitis-B-Virus*, *Humanes Immundefizienz-Virus-1* oder *Synzytial-Virus*), algizide (Art: *Chlamydomonas reinhardtii*) und antibakterielle Wirkung gefunden.^{90,91,92,93}

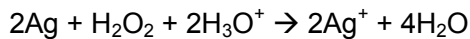
Die antimikrobielle Aktivität (AMA) von Silber ist sehr stark ausgeprägt.⁹⁴ Silber wirkt sowohl bakteriostatisch als auch bakterizid,⁵⁰ wodurch Silber gegen eine Vielzahl von grampositiven (z.B. Arten *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Bacillus subtilis* oder *Streptococcus mutans*) und gramnegativen Bakterienarten (z.B. Arten *Escherichia coli*, *Klebsiella mobilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa* oder *Vibrio cholerae*) antibakteriell wirkt.^{47,92} Ag wirkt sogar gegen antibiotikaresistente pathogene Bakterien (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus epidermidis* oder *Escherichia coli*).^{47,90,92} Zudem besteht keine Restriktion auf anaerobe oder aerobe Bakterienarten.

Die starke Zytotoxizität gegenüber Bakterien basiert auf den verschiedenen Wirkungsweisen von Silber.^{90,91,92,95} Es ist bewiesen, dass Ag-Nanopartikel eine höhere AMA als großvolumige Silberprodukte besitzen.^{35,47,96} Ursache ist das größere Verhältnis von Oberfläche zu Volumen.^{91,95} Der Mechanismus der AMA von Ag-Nanopartikeln auf Bakterien ist jedoch noch nicht komplett geklärt. Es werden 3 Wirkweisen angenommen:^{90,91,92,94,95,97}

- (I) Freisetzung von Silber-Ionen, welche zur Störung bzw. Unterbrechung der Adenosintriphosphat (ATP) -Produktion und der Desoxyribonukleinsäure (DNS) - Replikation führen,
- (II) Generierung von reaktiven Sauerstoffspezies durch Ag-Nanopartikel und Silber-Ionen,
- (III) Schädigung der Zellmembran durch direkten Kontakt mit Ag-Nanopartikeln.

Bei der Freisetzung von Silber-Ionen (Ag^+) aus Ag-Nanopartikeln ist die bessere Löslichkeit von Ag^+ im feuchten Milieu und das große Verhältnis von Oberfläche zu Volumen sehr vorteilhaft.^{91,95} Die *in vivo*-Freisetzung von Silber-Ionen wird durch die oxidative Auflösung von Ag-Nanopartikeln in Gegenwart von Wasserstoffperoxid (H_2O_2)

und Hydronium-Ionen (H_3O^+) innerhalb als auch außerhalb der Zelle in Form der chemischen Reaktion:



vermutet (Abb.6: A). Die Bereitstellung von Hydronium-Ionen bzw. Protonen für diese Reaktion kann bei prokaryotischen Organismen im Rahmen der Atmungskette (protonenmotorische Kraft) in Umgebung der Zellmembran erfolgen (Abb.6: A). Dementsprechend lässt sich auch die hohe AMA von Ag im feuchten Milieu durch die Formation und Freisetzung von Ag^+ erklären.⁹¹

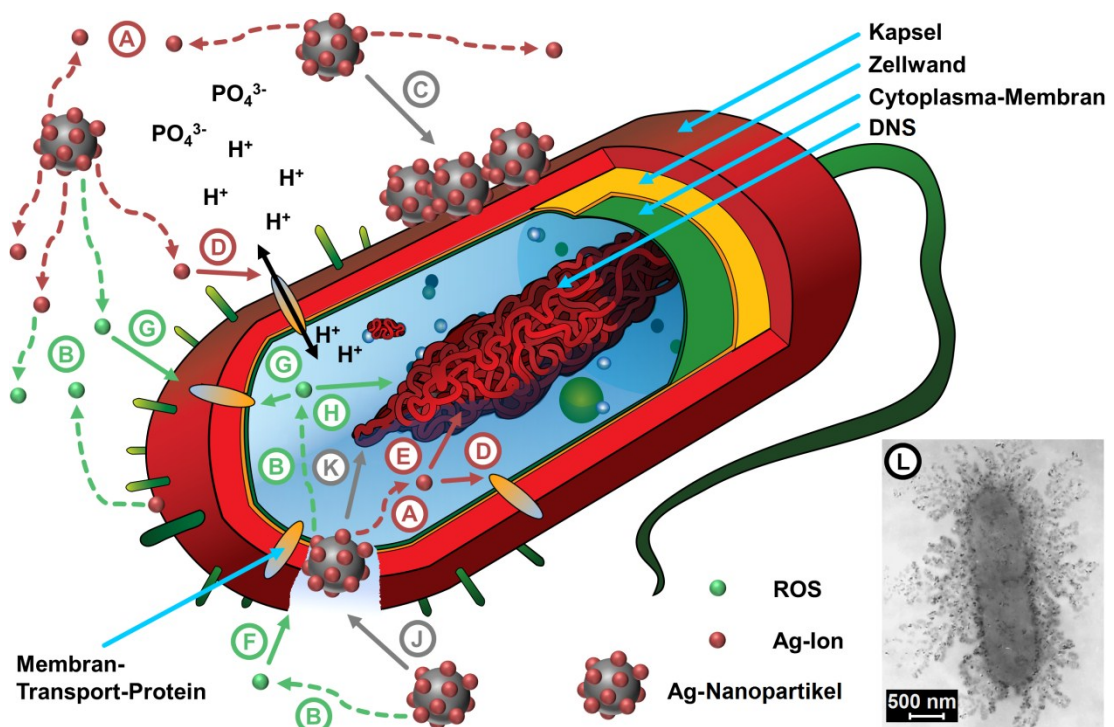


Abb.6: Schematische Darstellung der antimikrobiellen Wirkweisen von Ag-Nanopartikeln und Silber-Ionen bei einer prokaryotischen Zelle (Urheber der prokaryotischen Zelle: Mariana Ruiz Villarreal)⁹² sowie eine transmissionselektronenmikroskopische Aufnahme einer *Escherichia coli*-Zelle nach der Behandlung mit einer Ag-Nanopartikel-Lösung.⁹⁸

Das ionische Silber besitzt nachweislich antimikrobielle Eigenschaften, welche einen Betrag zur AMA leisten. Bei submikromolaren Dosen interagiert Ag^+ mit Enzymen der Atmungskette (z.B. NADH-Dehydrogenase). Dadurch wird die Atmung von der ATP-Synthese entkoppelt. Darüber hinaus binden sich die Ionen an Transport-Proteine und führen einen Protonen-Verlust herbei (Abb.6: D), welcher den Zusammenbruch der protonenmotorischen Kraft bewirkt. Die Aufnahme von Phosphat-Ionen (PO_4^{3-}) wird behindert, was zum Ausfluss von intrazellulärem PO_4^{3-} führt. Alle diese Wechselwirkungen bei Prozessen der Atmung und der Transport-Proteine basieren auf

der Affinität von Ag^+ zu den Thiol-Gruppen (R-SH) der Proteine. Außerdem wird vermutet, dass Ag^+ zu einer zunehmenden Häufung von DNS-Mutationen führt (Abb.6: E).

In millimolaren Dosen erfolgen hingegen morphologische Veränderungen, wie beispielsweise die Schrumpfung des Cytoplasmas, die Ablösung der Zellmembran oder die Zellmembran-Zersetzung. Diese führen zur Freisetzung von intrazellulären Zellbestandteilen (Abb.6: L). Neben den morphologischen Veränderungen treten auch physiologische Effekte auf. Die Zellen bleiben zwar aktiv, jedoch sind sie nicht mehr in der Lage, sich zu replizieren bzw. zu wachsen (bakteriostatisch).

Als zweiter, potentiell auftretender Effekt der AMA ist die Generierung von reaktiven Sauerstoffspezies zu erwähnen (ROS, z.B. OH^\bullet oder $\text{O}_2^{\bullet-}$). ROS sind natürliche Nebenprodukte der Atmung von Organismen. In geringen Konzentrationen werden sie durch Antioxidantien kontrolliert und reguliert. Ein Überschuss an ROS führt jedoch zum Angriff von Membran-Lipiden und folglich zum Versagen der Zellmembran (Abb.6: F) sowie zu DNS-Schädigungen (Abb.6: H). Metalle wie Silber können die Generation von ROS in der Gegenwart von gelöstem Sauerstoff katalysieren (Abb.6: B). Dies führt zu einem ROS-Überschuss und dadurch zu einem erhöhten oxidativen Stress. Neben Ag können auch Ag^+ , welche von Ag freigesetzt worden sind oder an der Zelloberfläche chemisorbiert vorliegen, bei Funktion als Elektronen-Akzeptor ROS erzeugen (Abb.6: B). Die ROS führen zu einer Beeinträchtigung von in der Atmungskette beteiligten Enzymen (Wechselwirkung an den Thiol-Gruppen) oder Superoxid-Radikal-Fänger-Enzymen (z.B. Superoxid-Dismutase) (Abb.6: G).

Darüber hinaus sind die Ag-Nanopartikel in der Lage, an die Bakterienmembranen zu adhären, an dieser zu akkumulieren und mit dieser zu interagieren (z.B. Permeabilität erhöhen). Durch den direkten Kontakt können Löcher in der Membran erzeugt werden, welche die Nanopartikel befähigen, in die Zelle einzudringen (Abb.6: C und J). Der Mechanismus ist bisher jedoch noch nicht vollständig verstanden. Eine These besagt, dass die oberflächlich positiv geladenen Ag-Nanopartikel durch elektrostatische Anziehung mit der negativ geladenen Zellmembran interagieren. Das erklärt zwar die Wechselwirkung, jedoch nicht die Adhäsion und Aufnahme der Ag-Nanopartikel ins Zellinnere. Eine andere These behauptet, dass schwefelhaltige Proteine der Zellmembran als bevorzugte Interaktionspunkte dienen und Funktionsstörungen hervorrufen,^{35,56} ähnlich wie die Wechselwirkung mit Thiol-Gruppen von Proteinen der Atmungskette und des Transports. Dadurch wird die Funktion beeinflusst. Es erfolgt eine Erhöhung der Permeabilität und die Störung der Atmung.³⁵ Letztere Aussage ist gebräuchlicher, da mit ihr Schäden in der Zellmembran und die Schädigung der DNS erklärt werden können (Abb.6: J und K).

3. Experimentelle Durchführung

3.1. Herstellung von BNC und darauf aufbauender Hybride

3.1.1. Allgemeine Kultivierungsbedingungen der untersuchten Bakterienstämme der Gattung *Gluconacetobacter*

Grundlage für die Synthese bildete das durch Hestrin und Schramm beschriebene Flüssigmedium (HSM), welches sich aus 1 l destilliertem Wasser, 20,00 g D (+) - Glucose (wasserfrei, p.a., ACS, Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland), 5,00 g Bacto™ Pepton (enzymatisch abgebautes Protein, Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Deutschland), 5,00 g Hefeextrakt (Extrakt aus autolysierten Hefezellen, für technische Zwecke, Fluka Analytical, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland), 3,40 g Dinatriumhydrogenphosphat-Dihydrat (Reinheit $\geq 99,5\%$, Fluka Analytical, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland) und 1,15 g Citronensäure-Monohydrat (Reinheit $\geq 99,5\%$, p.a., ACS, ISO, Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) zusammensetzt.²⁹

Die Komponenten wurden mittels Magnet-Rührer (Heidolph MR 3002, Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Schwabach, Deutschland) gemischt, bis das Medium gelblich und klar wurde (pH-Wert 6,0 bis 6,3). Die nachfolgende Autoklavierung erfolgte für 20 Minuten bei 121°C (Systec DE-23, Systec GmbH Labor-Systemtechnik, Wettenberg, Deutschland). Das abgekühlte HSM wurde unter sterilen Bedingungen (HERAguard HPH Clean Bench, Thermo Fisher Scientific Germany Ltd. & Co. KG, Braunschweig, Deutschland) in das jeweilige Kultivierungsgefäß pipettiert und anschließend mit einer 7 Tage alten Vorkultur des jeweiligen Bakterienstamms (Tab.1) im Verhältnis von 20:1 (HSM : Vorkultur) beimpft.²⁵ Das Flüssigmedium wurde als Standkultivierung für 14 Tage im Inkubator (BINDER GmbH, Tuttlingen, Deutschland) bei einer Temperatur von 28°C kultiviert. Nach diesem Zeitraum wurden die synthetisierten Proben entnommen und mit destilliertem Wasser abgewaschen. Zur eigentlichen Reinigung wurden sie für 30 Minuten in einer 0,1 N Natronlauge (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) gekocht (Heizplattentemperatur: 180°C). Anschließend wurde das Wasser der Proben wiederholt gewechselt, bis deren Farbe Weiß war und das Wasser einen pH-Wert von 7,0 aufwies (Mettler-Toledo FE20 - FiveEasy™ pH (Elektrode LE409), Mettler-Toledo GmbH, Gießen, Deutschland). Die Proben wurden für 20 Minuten autoklaviert (Systec DE-23, Systec GmbH Labor-Systemtechnik, Wettenberg, Deutschland) und im Kühlschrank aufbewahrt bzw. gefriergetrocknet (*freeze-dried*). Die Lyophilisation der *never-dried* BNC-Proben wurde bei einer Kondensatortemperatur von -85°C und einem Vakuum von 63 Pa (Sicherheitsdruck: 165 Pa) für 48 Stunden durchgeführt (Martin Christ, ALPHA 2-4 LSC,

Osterode, Deutschland). Die BNC-Proben wurden vorher nicht eingefroren. Das Wasser der Proben erstarrte (spätestens am Tripelpunkt) bei Erzeugung des Vakuumdrucks.

Probenname	Bezeichnung	Bakterienart
GX1	DSM 14666	<i>Gluconacetobacter xylinus</i>
GX2	ATCC® 10245	<i>Gluconacetobacter xylinus</i>
GX3	ATCC® 53582	<i>Gluconacetobacter xylinus</i>
GH1	ATCC® 23769	<i>Gluconacetobacter hansenii</i>

Tab.1: Eigenschaften der zur BNC-Synthese verwendeten Bakterienstämme DSM 14666 (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSM), Braunschweig, Deutschland), ATCC® 10245, ATCC® 53582 und ATCC® 23769 (American Type Culture Collection (ATCC®), Manassas, USA).

3.1.2. *In situ*-Modifizierung von BNC mit Anatas-Nanopartikeln zur Herstellung photokatalytisch aktiver Hybride

Für die *in situ*-Herstellung von BNC-TiO₂-Hybriden wurden Anatas-Nanopartikel verwendet, welche durch CO₂-Laser Verdampfung (LAVA) hergestellt wurden.^{99,100} Bei diesem Verfahren wird ein grobkörniges Ausgangsmaterial (Anatas, VWR BDH Prolabo, GPR RECTAPUR 20732.298, VWR International GmbH, Darmstadt, Deutschland) im hochintensiven Fokus eines CO₂-Laserstrahls verdampft.^{99,100} Anschließend erfolgt die Nukleation und Kondensation in einem kontinuierlich strömenden Prozessgas unter Normaldruck. Der LAVA-Prozess ermöglicht es, kugelförmige, einkristalline Anatas-Nanopartikel mit durchschnittlichen Durchmessern von 21 nm und sehr hohen spezifischen Oberflächen von 41 m²/g zu synthetisieren.⁹⁹ Gleichzeitig sind die LAVA-Nanopartikel lediglich weich agglomeriert (van-der-Waals-Kräfte) und besitzen lediglich punktuell Kontaktflächen zueinander (Abb.A22, Anhang), wodurch ein Dispergieren und spätere Verwendung während der Biosynthese deutlich vereinfacht wird.⁹⁹ Zur Biosynthese wurde der Bakterienstamm GX DSM 14666 (GX1) verwendet. Das zur konventionellen Herstellung von BNC verwendete HSM musste zur Stabilisierung der Nanopartikel adaptiert werden. Durch die Reduzierung der Ionenstärke sowie einer Modifizierung des Puffersystems konnte eine Dispersion hergestellt werden, die nach der Sterilisation 14 Tage stabil war. In diesem Zusammenhang wurde die Konzentration der Bestandteile des McIlvaine-Puffersystems (Zitronensäure-Monohydrat und Dinatriumhydrogenphosphat-Dihydrat) auf 25 % der Ausgangskonzentration reduziert. Außerdem wurde die Konzentration des Hefeextrakts auf 50 % der Ausgangskonzentration gesenkt. Die Komponenten des HSM wurden zusammen mit den Anatas-Nanopartikeln gemischt und mit dem Rotor-Stator-Dispergiergerät Ultra

Turrax T25 BASIC (IKA-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Deutschland) für 10 min bei einer Drehzahl von 11000 Umdrehungen pro Minute (rpm) homogenisiert. Die Synthese erfolgte als Standkultivierung für 14 Tage im Inkubator (BINDER GmbH, Tuttlingen, Deutschland) bei 28°C und unter Lichtausschluss. Dadurch sollte eine lichtinduzierte Inaktivierung der Bakterienzellen durch die Anatas-Nanopartikel ausgeschlossen werden.^{101,102} Unter Verwendung des adaptierten HSM wurden Hybride mit unterschiedlicher Anatas-Konzentration c_{TiO_2} hergestellt (Tab.2).

Probe	T00	T05	T10	T20
c_{TiO_2} [g/l]	0	0,5	1,0	2,0

Tab.2: Die während der Biosynthese verwendete Konzentration der Anatas-Nanopartikel c_{TiO_2} zur *in situ*-Herstellung der BNC-TiO₂-Hybride T00, T05, T10 und T20.

3.1.3. Post-Modifizierung von BNC mit Ag-Nanopartikeln zur Herstellung antimikrobiell wirksamer Hybride

Die Abscheidung von antimikrobiell wirksamen Ag-Nanopartikeln an BNC wurde in Anlehnung an Ferraria *et al.* durchgeführt.⁹⁶ Die in der Literatur beschriebene Vorgehensweise wurde jedoch nur bei zweidimensionalen Filmen aus Regenerat-Cellulose getestet. Eine Übertragung dieses schrittweisen Verfahrens auf dreidimensionale Strukturen wie sie BNC darstellt, erfolgte bisher nicht. Für die Erprobung dieses *post*-Modifizierungsverfahrens an BNC wurden 12-Well-Proben (Volumen: $V = 5$ ml HSM), synthetisiert vom Bakterienstamm GX DSM 14666 (GX1), verwendet. Die Funktionalisierung von BNC wurde entsprechend der nachfolgenden 3 Schritte durchgeführt:⁹⁶

(I) Aktivierung von BNC durch N,N' – Carbonyldiimidazol:

Es wurde eine Lösung bestehend aus 300 ml wasserfreiem Dimethylsulfoxid (DMSO, Reinheit > 99 %, H₂O < 0,2 %, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) und 2,44 g N,N' – Carbonyldiimidazol (CDI, Konzentration: $c = 5,0 \cdot 10^{-2}$ mol/l, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland) vorbereitet und im Wasserbad unter stetigem Rühren auf 50°C erhitzt (ARE, VELP Scientifica, Usmate, Italien). Nach Zugabe der BNC-Proben, wurden diese für 2 Stunden unter ständigem Rühren behandelt.

(II) Modifizierung mit 1,4 – Diaminobutan:

Eine 1,4 – Diaminobutan-Lösung ($c = 1,0 \cdot 10^{-2}$ mol/l) bestehend aus 300 ml DMSO und 0,3 ml 1,4 – Diaminobutan (DAB, Reinheit > 98 %, Alfa Aesar GmbH & Co KG, Karlsruhe, Deutschland) wurde hergestellt. Nach der direkten Überführung der Proben

aus der CDI-Lösung in die DAB-Lösung erfolgte die Modifizierung für 2 Stunden bei Raumtemperatur und unter ständigem Rühren. Danach wurden die Proben für jeweils 15 Minuten in 300 ml Ethanol ($\geq 99,8\%$, mit ca. 1 % Methylethylketon, Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) und anschließend in 300 ml deionisiertem Wasser unter stetigem Rühren gewaschen, um nicht gebundene Diamine zu entfernen.

(III) Reduktion von Silber-Nanopartikeln:

Die Proben wurden in 300 ml Lösung bestehend aus 150 ml DMSO, 150 ml deionisiertem Wasser, 0,02 g wasserfreiem Natriumacetat (J.T. Baker, Deventer, Niederlande) und 0,06 ml Silbernitrat (AgNO_3 , AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland) gegeben und für 1 Stunde stetig gerührt. Die Silbernitrat-Konzentration (c_{AgNO_3}) wurde im Rahmen der Untersuchungen variiert (Tab.3). Danach wurden die Proben mit deionisiertem Wasser mehrfach gespült und darin gelagert.

Zusätzlich wurde im Rahmen des letzten Reaktionsschrittes der Einfluss unterschiedlicher Reaktionszeiten in der AgNO_3 -Lösung auf die Ausbildung der Ag-Nanopartikel an der aktivierten und modifizierten BNC evaluiert. In diesem Zusammenhang wurden für die Probe Ag5, neben der beschriebenen einstündigen Behandlung (Ag5-1h, entspricht Ag5), ebenfalls Reaktionszeiten von 2 Stunden (Ag5-2h) und 3 Stunden (Ag5-3h) berücksichtigt.

Probebezeichnung	Ag2.5	Ag5	Ag10	Ag20
c_{AgNO_3} [mol/l]	$2,5 \cdot 10^{-3}$	$5,0 \cdot 10^{-3}$	$10 \cdot 10^{-3}$	$20 \cdot 10^{-3}$

Tab.3: Die verwendeten Silbernitrat-Konzentrationen c_{AgNO_3} während des 3. Modifizierungsschrittes zur Herstellung der Ag-BNC-Hybride Ag2.5, Ag5, Ag10 und Ag20.

3.2. Untersuchungsmethoden

3.2.1. Zeitabhängige Betrachtungen im Rahmen der Biosynthese

Bestimmung des Wasseraufnahmevermögens:

Von den *never-dried* Proben (12-Well-Probenform, $V = 5$ ml HSM) wurde nach der Entnahme und dem vorsichtigem Abtropfen des überflüssigen Wassers die jeweilige Feuchtmasse m_{F1} bestimmt (Sartorius, CPA224S, Sartorius AG, Göttingen, Deutschland, Genauigkeit: entspricht einer Masse von $m = 0,1$ mg). Nach einer 24-stündigen Lufttrocknung im Trockenschrank (Zeit: $t = 24$ h, Temperatur: $\vartheta = 60^\circ\text{C}$, VWR DRY-Line 53, VWR International GmbH, Darmstadt, Deutschland) wurde die zugehörige

Trockenmasse m_{T1} bestimmt (Sartorius, CPA224S, Sartorius AG, Göttingen, Deutschland, Genauigkeit: $m = 0,1 \text{ mg}$). Aus dem Verhältnis von Feucht- und Trockenmasse einer jeden Probe wurde das entsprechende Wasseraufnahmevermögen (WAV) nach Gleichung 1 bestimmt.³⁸ Für die Proben einer Charge wurden das mittlere WAV und die zugehörige Standardabweichung in Abhängigkeit von der Kultivierungszeit d_K berechnet.

Gleichung 1:
$$\text{WAV} = \frac{m_{F1}}{m_{T1}} \cdot 100\%$$

Bestimmung des Wasserrückhaltevermögens:

Aus den *never-dried* Proben (12-Well-Probenform, $V = 5 \text{ ml}$ HSM) wurden mittels Skalpell quaderförmige Stücke (Oberfläche etwa $A = 50 \text{ mm}^2$) geschnitten. Aus einer kompletten *never-dried* Probe konnten mehrere Quader-Proben gewonnen werden (dadurch Berücksichtigung aller Bereiche einer Probe). Die Proben wurden für 15 min bei 4000 rpm (Schwerefeld: $1788 \times g$) zentrifugiert (Sartorius, SIGMA 2-16P Universalzentrifuge, Sartorius AG, Göttingen, Deutschland). Nach der Bestimmung der Feuchtmasse m_{F2} (Sartorius, CPA224S, Sartorius AG, Göttingen, Deutschland, Genauigkeit: $m = 0,1 \text{ mg}$), wurden die Proben bei 100°C im Trockenschrank (VWR DRY-Line 53, VWR International GmbH, Darmstadt, Deutschland) bis zur Massekonstanz ($t = 48 \text{ h}$) luftgetrocknet. Die erhaltene Trockenmasse m_{T2} einer Probe wurde bestimmt (Sartorius, CPA224S, Sartorius AG, Göttingen, Deutschland, Genauigkeit: $m = 0,1 \text{ mg}$) und verwendet, um das Wasserrückhaltevermögen (WRV) nach Gleichung 2 zu berechnen.^{16,25,62,103} Für alle Proben einer Charge wurden das mittlere WRV und die zugehörige Standardabweichung in Abhängigkeit von der Kultivierungszeit d_K berechnet.

Gleichung 2:
$$\text{WRV} = \frac{m_{F2} - m_{T2}}{m_{T2}} \cdot 100\%$$

Bestimmung der Trockenmasse und der Ausbeute:

Die *never-dried* Proben (12-Well-Probenform, $V = 5 \text{ ml}$ HSM) wurden im Trockenschrank (VWR DRY-Line 53, VWR International GmbH, Darmstadt, Deutschland) bei 100°C für 48 h luftgetrocknet und deren Trockenmasse m_T bestimmt (Sartorius, CPA224S, Sartorius AG, Göttingen, Deutschland, Genauigkeit: $m = 0,1 \text{ mg}$). Die Ausbeute Y wurde nach Gleichung 3 aus dem Verhältnis von gewonnener Trockenmasse m_T und verwendeter Glucose-Masse m_{Glu} im Kultivierungsmedium berechnet.²⁵

Gleichung 3:
$$Y = \frac{m_T}{m_{Glu}} \cdot 100\%$$

Lebend-Zell-Zahl-Bestimmung:

Für die Bestimmung der Lebend-Zell-Zahl (LZZ) wurde die Zahl der vermehrungsfähigen Zellen als Anzahl koloniebildender Einheiten (CFU) ausgedrückt und auf 1 ml Ausgangsmedium bezogen. Für jeden berücksichtigten Kultivierungstag wurde ein 50 ml-Erlenmeyerkolben mit 20 ml Kultivierungsmedium (Medium aus einem Ansatz) verwendet. Durch die sukzessive Verdünnung von 100 µl Kultivierungsmedium mit 900 µl HSM wurde eine dekadische Verdünnungsreihe von 10^{-1} bis 10^{-5} angelegt. Aus jeder Verdünnungsstufe wurden 100 µl auf einem Agar-Nährboden (Petrischale mit Nährboden, bestehend aus dem HSM mit $c = 16$ g/l Agar-Agar (Kobe I, pulverisiert, Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) mittels Drigalskispatel ausplattiert. Es erfolgte eine Doppelbestimmung. Nach einer Kultivierungszeit von sieben Tagen im Inkubator (BINDER GmbH, Tuttlingen, Deutschland) bei 28°C wurden die CFU jeder auszählbaren Verdünnungsstufe bestimmt. Aus diesen wurde der gewogene Mittelwert der CFU in 1 ml Probe in Abhängigkeit von der Kultivierungszeit d_K errechnet.¹⁰⁴

Bestimmung des Glucose-Gehalts:

Zur zeitabhängigen Bestimmung des Glucose-Gehalts wurde die im verwendeten Kultivierungsmedium enthaltene Glucose unter der katalytischen Wirkung von Glucose-Oxidase zu Gluconsäure-Lacton umgesetzt. Das bei der Reaktion entstandene Wasserstoffperoxid reagierte in Gegenwart von Peroxidase mit einem Redox-Indikator zu einem blaugrünen Farbstoff, welcher reflektometrisch bestimmt wurde (Reflectoquant Analysis System, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland). Für jeden berücksichtigten Kultivierungstag wurde ein 50 ml-Erlenmeyerkolben mit 20 ml Kultivierungsmedium (Medium aus einem Ansatz) verwendet. Es wurde die auf einen Liter Kultivierungsmedium bezogene Glucose-Masse $m_{G//}$ in Abhängigkeit von der Kultivierungszeit d_K bestimmt.

3.2.2. Chemisch-strukturelle Charakterisierung

Gel-Permeations-Chromatographie-Untersuchungen:

Die molekularen Charakteristika der BNC-Proben wurden durch die Gel-Permeations-Chromatographie (GPC) bestimmt.^{105,106} Die Molmassenverteilungen der gefriergetrockneten und anschließend in einer LiCl - *N,N*-Dimethylacetamid-Lösung (DMAc, Eluent filtriert durch einen 0,02 µm Filter, Massenkonzentration 0,9 % (w/V)) gelösten Proben (12-Well-Probenform, $V = 5$ ml HSM) wurde durch die Verwendung von

4 seriellen GPC-Säulen (PL Gel mixedA ALS, 20 μm , 7,5 x 300 mm) ermittelt. Die Flußrate betrug 1 ml/min. Das Injektionsvolumen lag bei 100 μl und die Laufzeit bei 45 min. Zur multiplen Detektion wurden ein Fluoreszenz-Detektor (TSP FL 2000, 290 nm Anregung, 340 nm Emission), ein MALLS-Detektor (multi angle laser light scattering, Wyatt Dawn DSP mit Argon-Ionen-Laser, 488 nm) und ein Brechungsindex-Detektor (Shodex RI-71) verwendet. Die softwaregesteuerte Auswertung der Molmassenverteilungen erfolgte bei 25°C und 488 nm (Basis: konzentrationsabhängiger Brechungsindex von 0,140 ml/g Cellulose in LiCl-DMAc (0,9 % (w/V))).

CP/MAS Festkörper- ^{13}C -NMR-Spektroskopie:

Zur Charakterisierung der BNC-Nahstruktur wurde die CP/MAS (cross-polarization / magic angle spinning) Festkörper- ^{13}C -Kernspinresonanz (NMR) -Spektroskopie mit TPPM (two pulse phase modulation) -Entkopplung (4 mm High-Kopf) herangezogen (Bruker AVANCE – 400 MHz NMR Spektrometer). Anwendung fanden *never-dried* BNC-Proben (12-Well-Probenform, $V = 5\text{ ml HSM}$), um strukturelle Veränderungen während des Trocknungsprozesses zu minimieren. Zudem waren die Auflösung und die Schärfe der Verschiebungs-Peaks der *never-dried* BNC-Proben besser als bei getrockneten Proben.¹⁰⁷ Bei der Untersuchung war die Verwendung eines speziellen Rotoreinsatzes notwendig, damit das Absprengen der Rotorkappe durch austretendes Wasser während der Rotation verhindert werden konnte. Bei einem statischen Magnetfeld von 9,4 T (entspricht: 9,4 Vs/m²), einer Rotationsfrequenz von 5 kHz betrug die Relaxationszeit 2 Sekunden. Die Kontaktzeit bei der CP (Kreuzpolarisation – Polarisationsübertrag von den Protonen auf die ^{13}C -Kerne) betrug 1 ms. Zur Bestimmung der Kristallinität D_c wurden die amorphen und kristallinen Anteile der ^{13}C -chemischen Verschiebungen δ von C4 (C4_a und C4) und von C6 (C6_a und C6) verwendet (Abb.1).^{16,107,108} Die Anteile der Cellulose-Modifikation I_α und I_β wurden aus den zugehörigen Peaks der C4- und C1-Atome bestimmt (Tab.A4, Anhang).^{28,109} Beide Berechnungen erfolgten mit Hilfe der NMR-Analyse-Software MestReC (Berechnung des Mittelwerts aus fünfmaliger Wiederholung des Peak-Fittings).

Mikrostruktur-Untersuchungen:

Die Aufklärung der supramolekularen Struktur wurde durch rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen von gefriergetrockneten Proben (12-Well-Probenform, $V = 5\text{ ml HSM}$) realisiert (Leica S440i, Cambridge, United Kingdom). Die zu untersuchenden Probenstellen wurden sorgsam, ohne Schädigungen oder Deformationen hervorzurufen, mit Hilfe eines Skalpells freigelegt. Zur Minimierung von Aufladungseffekten wurden die Proben vor der Untersuchung mit Gold bedampft (Edwards Sputter Coater S150B, EDWARDS GmbH, München, Deutschland). Für die

Bilderzeugung wurde der Sekundärelektronenkontrast verwendet. Die erhaltenen Oberflächeninformationen wurden bei einer Arbeitsspannung von 15 bzw. 20 kV und einem Arbeitsabstand von 10 mm (bzw. 25 mm bei der energiedispersiven Röntgenspektroskopie (energy dispersive X-ray spectroscopy, EDX) gewonnen. Der Nachweis der verwendeten Nanopartikel erfolgte mit Hilfe von EDX-Untersuchungen (Software LINK ISIS). Um die Verteilung der Poren und der Nanopartikel (sowie die zugehörigen prozentualen Flächenanteile) zu bestimmen, wurde das Bildbearbeitungsprogramm ImageJ 1.45 (Wayne Rasband (National Institutes of Health), Bethesda, USA) verwendet. Bei der Analyse der Rasterelektronenmikroskopie-Aufnahmen (REM-Aufnahmen), aufgenommen bei 1000-facher bzw. 10000-facher Vergrößerung, entsprach 1 Pixel 57,1 nm bzw. 5,7 nm. Die berücksichtigte Fläche betrug bei 1000-facher Vergrößerung 58,34 μm mal 38,86 μm und bei 10000-facher Vergrößerung 5,834 μm mal 3,886 μm . Sowohl die Poren als auch die Nanopartikel wurden durch Ellipsen beschrieben. Zur Bestimmung der einzelnen Poren- und Nanopartikel-Durchmesser wurde die Bildanalyse-Software AxioVision LE 4.4. (Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Jena, Deutschland) herangezogen.

Transmissionselektronenmikroskopische Untersuchungen:

Für die Untersuchung mittels Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) wurde das verwendete Anatas-LAVA-Pulver in 10 ml Ethanol ($\geq 99,8\%$, mit ca. 1 % Methylethylketon, Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) gegeben. Die Dispersion wurde für 10 min in einem Ultraschallbad dispergiert (Bandelin SONOREX DIGITEC, BANDELIN electronic GmbH & Co. KG, Berlin, Deutschland). Mit einer 10 μl Pipette wurde ein Tropfen der vorbereiteten Dispersion auf ein TEM-Grid (Plano GmbH, Wetzlar, Deutschland) gegeben, welches aus einem Kupfer-Netzchen und einer dünnen Graphitfolie bestand. Nach dem Verdunsten des Ethanols wurden die Proben bei einer Beschleunigungsspannung von 300 kV untersucht (JEOL JEM-3010 Electron Microscope, JEOL Ltd., Tokyo, Japan). Die Durchmesser der sphärischen Nanopartikel wurden aus den TEM-Aufnahmen mit dem Bildbearbeitungsprogramm DigitalMicrograph 3.9.0 ermittelt (Catan Inc., Pleasanton, USA).⁹⁹ Zur Auswertung und graphischen Darstellung der Partikelgrößenverteilung erfolgte die Einteilung in Klassen.^{99,110}

Röntgenbeugungs-Untersuchungen:

Für die röntgenographischen Untersuchungen wurden die zu untersuchenden Bereiche (Oberseite, Mittelschicht und Unterseite) der gefriergetrockneten Proben sorgsam, d.h. ohne Schädigungen oder Deformationen hervorzurufen, mit Hilfe eines Skalpell freigelegt. Unter Verwendung von Cu-K α -Strahlung (Wellenlänge: $\lambda = 0,154\text{ nm}$) wurden

die Proben bei einer Generator-Spannung von 40 kV und einem Generator-Strom von 40 mA im Winkelbereich 2Θ von 12° bis 60° bei einer Scan-Geschwindigkeit von $0,5^\circ/\text{min}$ und einer Schrittweite von $\Delta 2\Theta = 0,02^\circ$ untersucht (Bruker AXS D8 DISCOVER, Bruker AXS GmbH, Karlsruhe, Deutschland). Die aus der Röntgenbeugung (XRD) erhaltenen Rohdaten wurden mit Hilfe der DIFFRAC^{plus} Software von Bruker aufbereitet (Bruker AXS GmbH, Karlsruhe, Deutschland). Die Bestimmung des Kristallinitätsgrades D_c erfolgte mit Hilfe von Origin (OriginLab, Northampton, USA) sowohl nach der Peak-Intensitäts-Methode D_{c-P} , bei der der prozentuale Anteil der basislinie-korrigierten Intensität der (200)-Netzebenenchar und des amorphen Bereichs beim Minimum von $2\Theta = 18,3^\circ$ berechnet wurde,^{63,111} sowie nach der Integrationsmethode D_{c-I} , bei dem Peak-Fitting an den kristallinen Peaks bei $2\Theta = 14,6^\circ$, $17,1^\circ$ und $22,7^\circ$ sowie an dem amorphen Untergrund bei $2\Theta = 21,5^\circ$ erfolgte.^{34,111} Für letztere Methode wurden Gauß-Kurven verwendet, welche bis zu einem Bestimmtheitsmaß $R^2 \geq 0,997$ angepasst wurden.

Fourier-Transformations-Infrarot spektroskopische Untersuchungen:

Für den Nachweis der schrittweisen *post*-Modifizierung mit Ag-Nanopartikeln wurden die jeweiligen gefriergetrockneten Proben spektroskopisch mittels Bruker Optics ALPHA Fourier-Transformations-Infrarot (FT-IR) Spektrometer untersucht (Bruker Optik GmbH, Ettlingen, Deutschland). Die Spektren wurden durch Verwendung eines ATR-Aufsatz (abgeschwächte Totalreflexion, ALPHA-P) im Wellenzahl-Bereich $1/\lambda$ von 400 bis 4000 cm^{-1} mit einer Auflösung von $1/\lambda = 4\text{ cm}^{-1}$ aufgenommen. Die Bearbeitung der Spektren (Grundlinienkorrektur, Normierung) erfolgte mit der Software OPUS 6.5 (Bruker Optik GmbH, Ettlingen, Deutschland).

Elementaranalyse:

Zur Nachverfolgung der *post*-Modifizierung wurden die Stickstoff-, Kohlenstoff- und Sauerstoffgehalte von gefriergetrockneten Proben mittels Elementaranalyse bestimmt (Leco CHNS-932, LECO Instrumente GmbH, Mönchengladbach, Deutschland).

3.2.3. Mechanische Charakterisierung

Zugfestigkeit:

Die Bestimmung der Zugeigenschaften erfolgte in Anlehnung an die Normen EN ISO 527-1 und EN ISO 527-2.^{112,113} Für die konforme Durchführung wurden BNC-Prüfkörper mit einer Probenkörpergeometrie vom Typ 1A synthetisiert (Abb.7 und Tab.A5, Anhang). Die *never-dried* Proben wurden durch Schraubklemmen symmetrisch und parallel zur Belastungsrichtung eingespannt und anschließend bei Raumtemperatur mit einer

Deformationsgeschwindigkeit $v_{zug} = 50 \text{ mm/min}$ bis zum Versagen gedehnt (TIRAtest 2710, Tira GmbH, Schalkau, Deutschland). Während des Versuchs wurde die momentane Kraft F mit einem S-förmigen Kraftmesswandler detektiert ($F = 100 \text{ N}$, Messbereiche $F = 0,4 \text{ bis } 1 \text{ N}$ (Messkraftgenauigkeit: 1 %) und $F = 1 \text{ bis } 100 \text{ N}$ (Messkraftgenauigkeit: 0,5 %)). Unter Verwendung der vorgegebenen Probengeometrie konnte die nominelle Zugspannung σ berechnet werden. Im Zugversuch wurde zudem der Traversenweg aufgezeichnet, sodass die nominelle Dehnung ε auf Basis des Anfangsabstands der Klemmen l berechnet werden konnte.

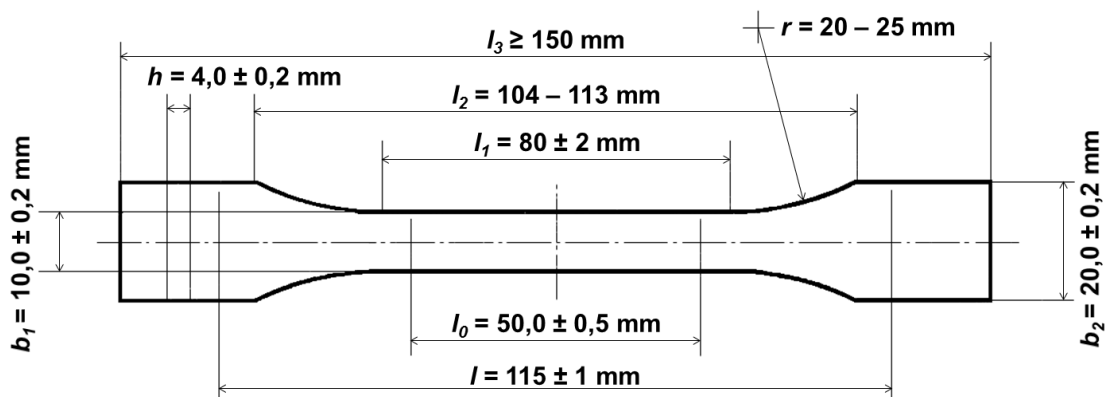


Abb.7: Die in der Norm EN ISO 527-1 vorgeschriebene Geometrie des Prüfkörpers zur Bestimmung von Zugeigenschaften (Probekörpergeometrie Typ 1A, Tab.A5, Anhang).¹¹²

Für die Untersuchung des Einflusses unterschiedlicher Deformationsgeschwindigkeiten wurden aus dem in der Prüfvorschrift verwendbaren Prüfungsgeschwindigkeitsbereich die Deformationsgeschwindigkeiten $v_{zug} = 10, 25$ und 100 mm/min hinzugezogen. Um Aussagen zum Versagens-Mechanismus durch die Zuhilfenahme der REM zu erhalten, wurden die Proben unmittelbar nach den Tests einer Gefriertrocknung unterzogen.

Kompressionsverhalten:

Die Bestimmung der Kompressionseigenschaften erfolgte in Anlehnung an die Norm DIN EN ISO 604.¹¹⁴ Für die konforme Durchführung wurden BNC-Prüfkörper in 12-Well-Probenform synthetisiert ($V = 5 \text{ ml HSM}$, $A = 346,37 \text{ mm}^2$, Zylinderform). Die *never-dried* Proben wurden senkrecht zur Deformationsrichtung gelagert (die obere Schicht im Kontakt zum Boden) und anschließend bei Raumtemperatur mit einer Kompressionsgeschwindigkeit $v_{druck} = 10 \text{ mm/min}$ bis zu einer Stauchung von 50 % deformiert (TIRAtest 2710, Tira GmbH, Schalkau, Deutschland). Während des Versuchs wurde die momentane Kraft F mit einem S-förmigen Kraftmesswandler detektiert ($F = 1000 \text{ N}$, Messbereiche $F = 4 \text{ bis } 10 \text{ N}$ (Messkraftgenauigkeit: 1 %) und $F = 10 \text{ bis } 1000 \text{ N}$ (Messkraftgenauigkeit: 0,5 %)). Unter Verwendung der vorgegebenen Probengeometrie konnte die nominelle Druckspannung σ_D berechnet werden. Im

Kompressionstest wurde zudem der Traversenweg aufgezeichnet, sodass die nominelle Stauchung ε_D berechnet werden konnte. Für die Untersuchung des Einflusses unterschiedlicher Kompressionsgeschwindigkeiten v_{druck} wurden aus dem in der Prüfvorschrift verwendbaren Prüfungsgeschwindigkeitsbereich die Geschwindigkeiten 1 und 5 mm/min hinzugezogen. Um Einblicke in den Struktur-Kollaps bzw. das Kompressionsverhalten durch die Zuhilfenahme der REM zu erhalten, wurden die Proben bis zu einer Stauchung von 73 % deformiert. In diesem Stauchbereich wurde der Versuch punktuell bei einzelnen Stauchungen unterbrochen. Unmittelbar nach den Tests wurden die deformierten Proben einer Gefriertrocknung unterzogen.

3.2.4. Spezielle Verfahren zur Eigenschaftscharakterisierung der funktionellen BNC-Hybride

BacTiter-Glo™-Test:

Die Evaluierung der AMA erfolgte mit Hilfe des BacTiter-Glo™-Tests (BacTiter-Glo™ Microbial Cell Viability Assay, Promega GmbH, Mannheim, Deutschland). Aufgrund des anisotropen Aufbaus wurden die Ober- und Unterseiten der jeweiligen Proben (GX1 und Ag5 mit 12-Well-Probenform ($V = 5$ ml HSM)) untersucht und durch eine Dreifach-Bestimmung qualitativ abgesichert. Für den BacTiter-Glo™ (BTG) -Test wurden *Escherichia coli* (*E. coli*) vom Bakterienstamm HB 101, kultiviert im Casein-Soja-Pepton-Agar-Medium (CASO, Broth medium A, Tryptic Soy Broth, TSB, SIFIN Institut für Immunpräparate und Nährmedien GmbH, Berlin, Deutschland),⁹⁴ verwendet. Die zu testende Seite der Probe wurde nach oben gerichtet in einer 12-Well-Schale platziert und durch die Zugabe von 1,0 ml hergestellter *E. coli*-Suspension (Ausgangslumineszenz: $I_L = 75000$ counts) benetzt. Anschließend wurden die Proben in einem Schüttel-Inkubator für drei Stunden bei 37°C und 90 rpm gemischt (GFL Gesellschaft für Labortechnik GmbH, Burgwedel, Deutschland). Von jeder vorbereiteten Probe wurden 50 µl Suspension in eine 96-Well-Schale abpipettiert. Zu dieser wurden jeweils 50 µl BTG-Reagenz hinzugegeben. Die neue Suspension wurde für fünf Minuten auf einem Schüttler bei 850 rpm durchmischt (MixMate, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland). Anschließend konnte durch die Messung des Lumineszenz-Signals (GENios Pro, Tecan Deutschland GmbH, Crailsheim, Deutschland) die Anzahl der lebenden Bakterien bestimmt werden (Software Magellan V 5.00).^{94,115}

Plattentropf-Test:

Für die Evaluierung der AMA mit Hilfe des Plattentropf-Tests wurden aufgrund des anisotropen Aufbaus die Ober- und Unterseiten der jeweiligen Proben (GX1 und Ag5 mit 12-Well-Probenform ($V = 5$ ml HSM)) untersucht und durch eine Dreifach-Bestimmung

qualitativ abgesichert. Für den Plattentropf-Test wurden *E. coli* vom Bakterienstamm HB 101, kultiviert im Casein-Soja-Pepton-Agar-Medium (CASO, Broth medium A, Tryptic Soy Broth, TSB, SIFIN Institut für Immunpräparate und Nährmedien GmbH, Berlin, Deutschland),⁹⁴ verwendet. Die zu testende Seite der Probe wurde nach oben schauend in einer 12-Well-Schale platziert und durch die Zugabe von 1,0 ml hergestellter *E. coli*-Suspension benetzt. Anschließend wurden die Proben in einen Schüttel-Inkubator für drei Stunden bei 37°C und 90 rpm gemischt (GFL Gesellschaft für Labortechnik GmbH, Burgwedel, Deutschland). Für die Kultivierung der Bakterien-Suspensionen wurden sterile Petrischalen mit dem erhitztem Nährmedium (tryptic soy agar, SIFIN Institut für Immunpräparate und Nährmedien GmbH, Berlin, Deutschland) unter sterilen Bedingungen (HERAguard HPH Clean Bench, Thermo Fisher Scientific Germany Ltd. & Co. KG, Braunschweig, Deutschland) ausgegossen und abgekühlt. Aus den vorbereiteten Proben wurden 100 µl Bakterien-Suspension abpipettiert und daraus eine Verdünnungsreihe in den Verhältnissen 1:1, 1:10, 1:100 und 1:1000 erstellt. 30 µl der jeweiligen Verdünnung wurden auf die in Viertel geteilten Kultivierungsplatten getropft. Die Kultivierungsplatten wurden in einem Inkubator (BINDER GmbH, Tuttlingen, Deutschland) für 18 Stunden bei 37°C kultiviert. Anschließend wurden die gebildeten Kolonien der höchsten Verdünnung (1:1000) eingescannt und ausgezählt. Über die Anzahl der bestimmten Kolonien, die Verdünnungsstufe und das Inokulum konnte die Zahl der CFU je Milliliter Suspension berechnet werden.^{94,104}

Agar-Diffusionstest:

Um die Immobilisierung der Ag-Nanopartikel an den BNC-Hybriden qualitativ zu bewerten, wurde die AMA mittels Agar-Diffusionstest bestimmt.^{116,117,118} Aufgrund des anisotropen Aufbaus wurden die Ober- und Unterseiten der jeweiligen Proben (GX1 und Ag5 mit 12-Well-Probenform ($V = 5$ ml HSM)) untersucht und durch eine Dreifach-Bestimmung qualitativ abgesichert. Im Rahmen der Untersuchungen wurde das Testbakterium *E. coli* DSM 5923 (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Deutschland) verwendet (Präinkubation: Columbia-Agar mit 5 % Schafblut, Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Deutschland; Inkubation: Mueller-Hinton-II-Bouillon, Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Deutschland). Aus einer 24 Stunden alten *E. coli*-Schüttelkultur wurde unter sterilen Bedingungen (Thermo Scientific MSC-Advantage, Thermo Fisher Scientific Germany Ltd. & Co. KG, Braunschweig, Deutschland) eine Suspension hergestellt, die einer Trübung von McFarland-Standard 0,5 entsprach (McFarland Turbidity Standard 0.5, Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Deutschland). Danach wurde die *E. coli*-Suspension mit einer physiologischen Kochsalz-Lösung (0,9 % NaCl) 10^{-1} verdünnt. Aus dieser Verdünnungsstufe wurden jeweils 100 µl auf eine Mueller-Hinton-2-Agar-Platte

(bioMérieux Deutschland GmbH, Nürtingen, Deutschland) pipettiert und mit einem sterilen Drigalskispatel gleichmäßig auf der Oberfläche verteilt. Nach einer 15 minütigen Inkubation bei Raumtemperatur wurden die *never-dried* Proben mit der zu untersuchenden Oberfläche auf der Agar-Platte platziert. Auf jeder Platte wurden 3 Proben positioniert. Für jede untersuchte Probenoberfläche wurde eine Negativkontrolle (Papierscheibe, mit 20 µl physiologischer Kochsalz-Lösung (0,9 % NaCl) befeuchtet) und eine Positivkontrolle (Papierscheibe mit Amoxicillin/Clavulansäure, mit 20 µl physiologischer Kochsalz-Lösung (0,9 % NaCl) befeuchtet) hinzugefügt (Antimicrobial Susceptibility Test Discs, Oxoid Deutschland GmbH, Wesel, Deutschland). Die vorbereiteten Platten wurden anschließend im Inkubator (Mettler GmbH + Co. KG, Schwabach, Deutschland) für 24 Stunden bei 37°C inkubiert. Danach wurden von den Agar-Platten Photographien angefertigt, um den Durchmesser der gebildeten Hemmhöfe d_H um die Proben zu bestimmen.

Abbau von Methylblau:

Die Charakterisierung der photokatalytischen Aktivität (PKA) der BNC-TiO₂-Hybride erfolgte durch die Redox-Reaktion von Methylblau (MB) in wässriger Lösung.¹¹⁹ Die Grundlage der Untersuchungsmethode sind Radikale (z.B. OH[•], O₂^{•-}) und Ladungsträger (H⁺),¹²⁰ welche bei der Bestrahlung von TiO₂ mit Licht ausreichender Energie generiert werden. Diese reagieren mit der oxidierten, farbigen Form von MB (Methyl-Blau-Hydrat, 66720, Reinheit ≥ 97%, Fluka, Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH, Seelze, Deutschland) zunächst zu der reduzierten, farblosen Leuko-Form, welche ein Intermediat darstellt (Abb.8).^{121,122} In Folgereaktionen kann die Leuko-Form vollständig mineralisiert werden (Entstehung von CO₂, H₂O, HNO₃, H₂SO₄ und HCl).^{121,123}

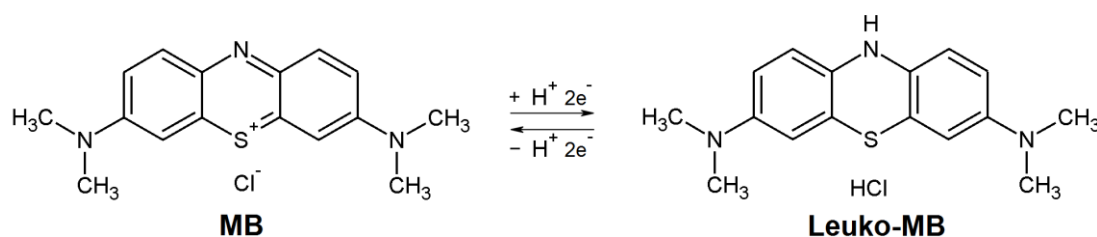


Abb.8: Änderung der chemischen Struktur bei der schematisch dargestellten Redox-Reaktion von MB zur farblosen Leuko-Form.¹²⁴

Für die Durchführung des MB-Abbaus wurden 12-Well-Proben ($V = 5$ ml HSM) verwendet, die zur Vorbereitung für 24 Stunden unter Lichtausschluss in der Konditionierungslösung ($c_{Kon} = 20,0 \pm 0,1$ µmol/l) aufbewahrt wurden. Danach wurden die Proben in einen Erlenmeyerkolben (Breithals VWR 50ml Borosilicatglas 3.3, VWR International GmbH, Darmstadt, Deutschland) mit 50 ml Prüflösung ($c_0 = 10,0 \pm 0,5$ µmol/l) überführt (Abdichtung mit Alu-Folie als Verdunstungsschutz). Die

Messung erfolgte bei Raumtemperatur ($\vartheta = 23 \pm 2^\circ\text{C}$), unter Rühren mit 150 - 200 rpm (Magnet-Rührer Heidolph MR 3002, Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Schwabach, Deutschland) und bei einer UV-Strahlung von $\lambda = 365\text{ nm}$ (Diodenarray Nichia 365 nm, Nichia Corporation, Tokushima, Japan). Die vorgeschriebene Bestrahlungsstärke von $B_{\text{UVA}} = 10,0 \pm 0,5\text{ W/m}^2$ wurde durch einen Abstand von $s = 71,1\text{ mm}$ und einer Stromstärke von 250 mA erreicht (Abb.A16b, Anhang). In Abständen von 5 Minuten wurden 3 ml Lösung aus dem Prüfgefäß entnommen und die momentane Absorbanz $A_{\lambda t}$ bei einer Analysewellenlänge von $\lambda = 664\text{ nm}$ mittels UV-VIS Spektrometer bestimmt (Ultrospec 2100 pro, GE Healthcare Europe GmbH, Freiburg, Deutschland). Die Analysewellenlänge von $\lambda = 664\text{ nm}$ entspricht in diesem Zusammenhang dem maximalen Absorptionsspeak des UV-VIS-Spektrums von MB (Abb.A16a, Anhang). Nach der Messung wurde die Analyselösung in die Prüflösung zurückgegeben und die Messung fortgesetzt. Für die Darstellung des prozentualen MB-Abbaus durch die BNC-TiO₂-Hybride wurde aus den ermittelten zeitabhängigen MB-Absorbanzen $A_{\lambda t}$ das Verhältnis zur initialen MB-Absorbanz $A_{\lambda 0}$ berechnet ($A_{\lambda t}/A_{\lambda 0}$). Zur Bestimmung der scheinbaren photokatalytischen Entfärbung (z.B. durch Adsorption) wurde parallel eine gleichartige Referenzprobe in einem zweiten Gefäß in Abwesenheit von UV-Strahlung untersucht.

Methanol-Konversion:

Um die PKA der BNC-TiO₂-Hybride auf Basis der am Photokatalysator generierten Hydroxyl-Radikale (OH[•]) zu untersuchen, wurde die Methanol-Konversion (MK) verwendet.^{125,126} Die Methode beruht darauf, dass Hydroxyl-Radikale mit aliphatischen Alkoholen durch die Wasserstoffabstraktion einer C-H-Bindung reagieren (Abb.9). Im Falle von Methanol können die OH-Radikale nur das α -Wasserstoffatom abstrahieren (bei 93 %, bei den restlichen 7 % erfolgt der Angriff am Hydroxyl-Wasserstoff).¹²⁷ Dabei wird das Hydroxymethyl-Radikal gebildet (Abb.9: I), welches anschließend mit dem gelösten Sauerstoff der Lösung quantitativ zu Formaldehyd (Abb.9: II HCHO) reagiert ($0,93 \cdot c_{\text{OH}^\bullet} = c_{\text{HCHO}}$).¹²⁷ Weil Formaldehyd in der Flüssigphase schlecht erfassbar ist, wird es mittels 2,4-Dinitrophenylhydrazin (DNPH, Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH, Seelze, Deutschland) zum entsprechenden Formaldehyd-2,4-Dinitrophenyl-hydrazon (FDNPH) derivatisiert (Abb.9: III). Sowohl DNPH als auch FDNPH sind mittels Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC) bei einer Wellenlänge von $\lambda = 360\text{ nm}$ detektierbar.

Für die Untersuchungen der Hybride (96-Well-Probenform, $V = 0,25\text{ ml HSM}$) war ein Lösungsmittelaustausch auf eine 1 volumenprozentige (Vol/%) Methanol-Lösung notwendig (Methanol, HPLC-grade, VWR International GmbH, Darmstadt, Deutschland). Der Lösungsmittelaustausch erfolgte durch den viermaligen Wechsel des

Lösungsmittels bei Raumtemperatur alle 24 Stunden. Zur Durchführung der Methanol-Konversion wurden 25 mg in Acetonitril umkristallisierten 2,4-DNPH in 5 ml HPLC-reinem Acetonitril (VWR International GmbH, Darmstadt, Deutschland) gelöst. Nach Zugabe von 10 ml einer 1 molaren Salzsäurelösung wurden eventuell entstandene Niederschläge abfiltriert. Eine Küvette aus Quarzglas (Abmessung 10x10x30 mm, im UV-A-Wellenlängenbereich bei circa $\lambda = 365$ nm durchlässig) wurde mit 1 ml einer 1 Vol% methanolischen Lösung gefüllt. Danach wurden die Proben hinzugegeben und unter Rühren für 15 Minuten bestrahlt. Die Küvetten-Mitte befand sich 0,5 m von der Strahlungsquelle entfernt (Xenonbogenlampe XBO 450 W mit Wasserfilter, Müller GmbH Elektronik-Optik GmbH, Moosinning, Deutschland). In dieser Entfernung betrug die Bestrahlungsstärke für den UV-A-Anteil $B_{UVA} = 1,8$ mW/cm² (Photometer UVM-CP, UV-Consulting Peschl e.K., Mainz, Deutschland) und für den sichtbaren (VIS) Bereich $B_{VIS} = 150$ mW/cm² (NIST Traceable PHOTOMETER Model IL1400A, International Light Technologies Inc., Peabody, USA).

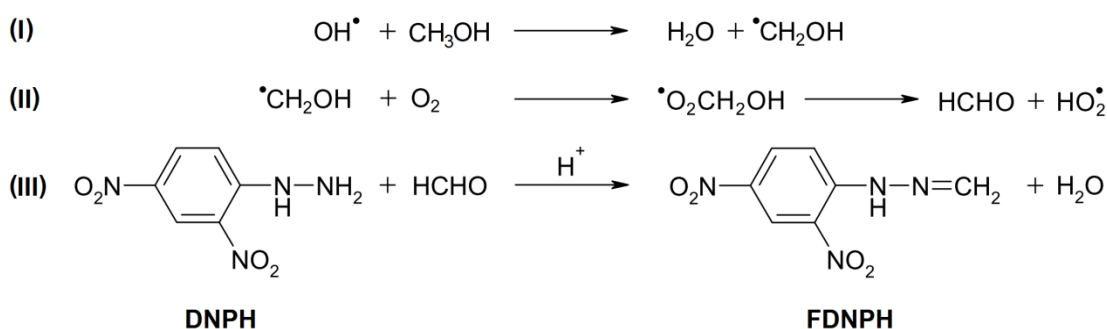


Abb.9: Schematische Abläufe im Rahmen der MK für (I) die Reaktion von Hydroxyl-Radikalen mit Methanol, (II) die Entstehung von Formaldehyd und (III) die Derivatisierung von DNPH zu FDNPH.

Nach der Bestrahlung wurde die Methanol-Lösung mittels Pipette aus der Küvette in ein HPLC-Vial überführt und danach mit 50 μl der 2,4-DNPH-Lösung versetzt. Zur Derivatisierung wurde die Probelösung 90 Minuten bei Raumtemperatur geschüttelt, bevor die Probe unter folgenden HPLC-Bedingungen vermessen wurde: Pumpe: Dionex Ultimate 3000 pump, Autosampler: Dionex Ultimate 3000, Detektor: Dionex UVD 340 U, Säule: Kromasil 100 C18, Ofen: Dionex Ultimate 3000 Column Compartment ($\vartheta = 25^\circ\text{C}$), Eluent: Acetonitril (70 Vol%, HPLC-grade) und deionisiertes Wasser (30 Vol%, Millipore), Fluss: 1800 $\mu\text{l}/\text{min}$, Injektionsvolumen: $V = 20$ μl und Wellenlänge: $\lambda = 360$ nm. Nach der Kalibrierung mit Lösungen bekannter DNPH- und FDNPH-Konzentrationen (linearer FIT), wurden die jeweiligen Retentionszeiten von DNPH und FDNPH (mit unbekannter Konzentration) im Rahmen des MK-Tests bestimmt. Aus den gewonnen Intensitäten (Peak-Flächen) konnte auf die Edukt- und Produkt-Konzentration geschlossen und die Hydroxyl-Radikal-Konzentration c_{OH^\bullet} berechnet werden (Abb.A15a, Anhang).

4. Ergebnisse

4.1. Charakterisierung von BNC unterschiedlicher *Gluconacetobacter*-Stämme

4.1.1. Bildung von BNC

Der Celluloseaufbau aus einer Kohlenstoff-Quelle und die damit verbundenen Eigenschaften sind vom betrachteten Kultivierungstag abhängig. Zwar ist der Verlauf des Glucose-Gehalts im HSM für alle Bakterienstämme der Gattung *Gluconacetobacter* charakteristisch (Abb.10a), dennoch unterscheidet er sich leicht.

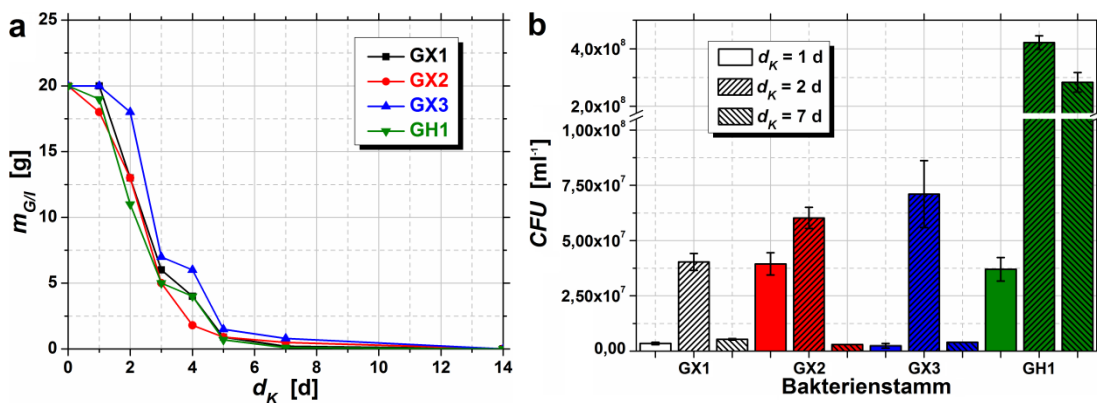


Abb.10: a) Verlauf der Glucose-Masse $m_{G/l}$, welche auf einen Liter Kultivierungsmedium bezogen ist, und b) die bestimmte aktive Lebend-Zell-Zahl CFU während der BNC-Synthese von GX1, GX2, GX3 und GH1 in Abhängigkeit von der Kultivierungszeit d_K .

Nach dem Start der Synthese bleibt der initiale Glucose-Gehalt im HSM von 20 g/l zunächst konstant.³¹ Dies kann mit einer Adaptionphase der Mikroorganismen an die veränderten Umgebungsbedingungen erklärt werden. Die Dauer dieser Adaptionphase hängt vom betrachteten Bakterienstamm ab. Für GX2 und GH1 nimmt die Glucose-Masse $m_{G/l}$ bereits nach einem Kultivierungstag leicht ab. Hingegen ist sie bei GX1 und GX3 noch unverändert. Diese Beobachtung korreliert mit den bestimmten CFU (Abb.10b). Die initiale CFU-Anzahl von 10^5 CFU/ml³¹ bleibt nach einer Kultivierungszeit von einem Tag für GX1 und GX3 nahezu unverändert. Im Vergleich dazu sind für GX2 und GH1 deutlich mehr aktive vermehrungsfähige Bakterienzellen bestimmbar. Diese können sich schneller an die neuen Umgebungsbedingungen anpassen und die Glucose im HSM schneller in ihren Kohlenstoff-Metabolismus integrieren. Dies hat zur Folge, dass GX2 und GH1 schneller eine geringe Menge BNC synthetisieren können, um an die sauerstoffreiche Grenzfläche des Kultivierungsmediums zu gelangen, an der sie den biotechnologischen Aufbau fortsetzen. Aus diesem Grund unterscheidet sich die bestimmte Cellulose-Trockenmasse innerhalb der ersten Kultivierungstage vor allem für

GH1, der zur Art *G. hansenii* gehört, von denen der Art *G. xylinus* (Abb.11a). Nach zwei Kultivierungstagen befindet sich der Großteil der Bakterien an der Grenzfläche zwischen Kultivierungsmedium und Luft. Folglich steigt die Anzahl der CFU deutlich an (Abb.10b). Dies trifft für alle *Gluconacetobacter*-Stämme zu. Es bedeutet, dass mehr Bakterien mehr Glucose in ihren Stoffwechsel einbeziehen können, sodass der Glucose-Gehalt im Kultivierungsmedium stark abnimmt (Abb.10a). Durch die Verwendung einer hohen initialen CFU-Konzentration beim Synthesestart, ist die Wachstumskurve der Bakterienpopulationen nicht so markant ausgeprägt. Das CFU-Maximum wird nicht nach 8 bis 10 Kultivierungstagen erreicht, sondern bereits innerhalb der ersten Tage.³² Aus diesem Grund wird beinahe 90 % der verwendeten Glucose-Masse innerhalb der ersten 5 Kultivierungstage verbraucht (Abb.10a). Dieser charakteristische Verlauf aller *Gluconacetobacter*-Stämme entspricht dem in der Literatur beschriebenen Verhalten von GX1.^{30,31,32} Die starke Abnahme stimmt zudem mit der starken Zunahme der Trockenmasse überein (Abb.11a). Durch den Verbrauch der im Medium vorhandenen Nährstoffe und durch die Zunahme der Vliesdicke verlangsamt sich die BNC-Synthese allmählich und kommt schließlich vollständig zum Erliegen (circa 7. Kultivierungstag). Jedoch ist die Zunahme der Cellulose-Trockenmasse innerhalb der 14-tägigen Kultivierungszeit vom verwendeten Bakterienstamm abhängig. Demzufolge führt die Verwendung unterschiedlicher Bakterienstämme auch zu unterschiedlichen Materialausbeuten.

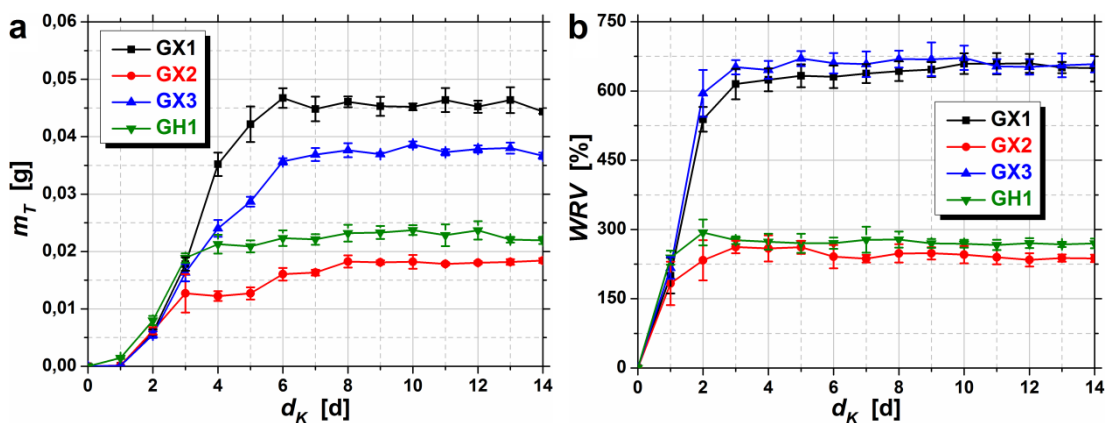


Abb.11: a) Trockenmasse m_T und b) Wasserrückhaltevermögen WRV von BNC der Bakterienstämme GX1, GX2, GX3 und GH1 in Abhängigkeit von der Kultivierungszeit d_K .

4.1.2. Chemisch-strukturelle Materialeigenschaften

Im Rahmen des biotechnologischen Aufbauprozesses werden laut Literatur für *Gluconacetobacter* Ausbeuten von $Y = 40\%$ erreicht.¹⁰ Die Untersuchungen liefern Ausbeuten im Bereich von 18 % (GX2) bis 42 % (GX1) (Abb.11a und Tab.4). Dieser Unterschied spiegelt sich auch in der Vliesgestalt wider. Nach der 14-tägigen Kultivierungszeit unterscheiden sich die BNC-Vliese empirisch voneinander (Abb.12).

BNC von den beiden Bakterienstämmen GX1 und GX3 bilden optisch sehr ähnliche, formstabile Hydrogele mit vergleichbarer Dicke (Abb.12a und c). Tendenziell ist die Dicke von Vliesen des Bakterienstamms GX1 größer. Hingegen bildet sich beim GH1 ein weniger formstabilen Vlies, dass die Kegelstumpfform, welche durch die Geometrie des Kultivierungsgefäßes vorgegeben wurde, nicht selbstständig aufrechten erhalten kann (Abb.12d). Die Dicke des Vlieses ist jedoch vergleichbar mit GX1 und GX3. BNC von GX2 ist im Gegensatz zu den anderen GX-Stämmen durch ein dünnes Vlies charakterisiert (Abb.12b).

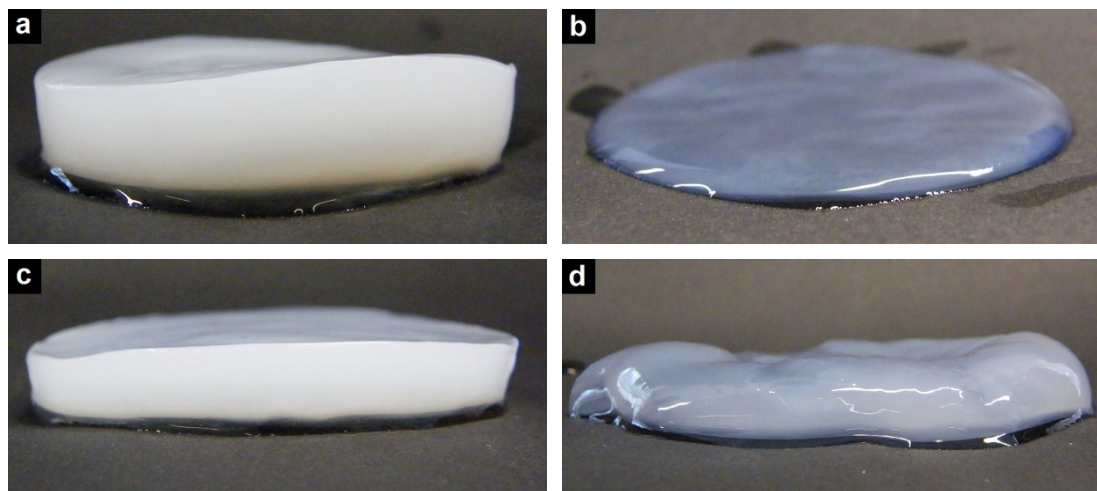


Abb.12: Fotografien von den synthetisierten und gereinigten BNC-Vliesen (Standkultivierung) der Bakterienstämme a) GX1, b) GX2, c) GX3 und d) GH1 im *never-dried* Zustand.

Probe	GX1	GX2	GX3	GH1
WAV [%]	10400 ± 400	22000 ± 2100	12100 ± 300	33400 ± 1200
WRV [%]	650 ± 29	237 ± 8	658 ± 18	270 ± 10
Y [g/l]	8,4 ± 0,1	3,7 ± 0,1	7,3 ± 0,1	4,4 ± 0,1

Tab.4: Wasseraufnahmevermögen *WAV*, Wasserrückhaltevermögen *WRV* sowie die Ausbeute *Y* von BNC der Bakterienstämme GX1, GX2, GX3 und GH1 nach Abschluss der Synthese.

Der Eindruck, der durch die Fotografien nach der Kultivierung entsteht, entspricht Beobachtungen aus der Literatur.^{1,5} Zudem zeigen die Aufnahmen in Verbindung mit den bestimmten Ausbeuten, dass die unterschiedlichen Bakterienstämme Vliese unterschiedlicher Morphologie synthetisieren. Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen der supramolekularen Struktur der *freeze-dried* BNC-Vliese von GX1 (Abb.13a-c), GX2 (Abb.13d-f), GX3 (Abb.13g-i) und GH1 (Abb.13j-l) verdeutlichen dies. Sie sind von den Oberseiten (Abb.13a, d, g und j), den Mittelschichten (Abb.13b, e, h und k) und den Unterseiten (Abb.13c, f, i und l) der BNC-Vliese aufgenommen und zeigen den typischen anisotropen Aufbau von BNC nach einer Standkultivierung.³⁰

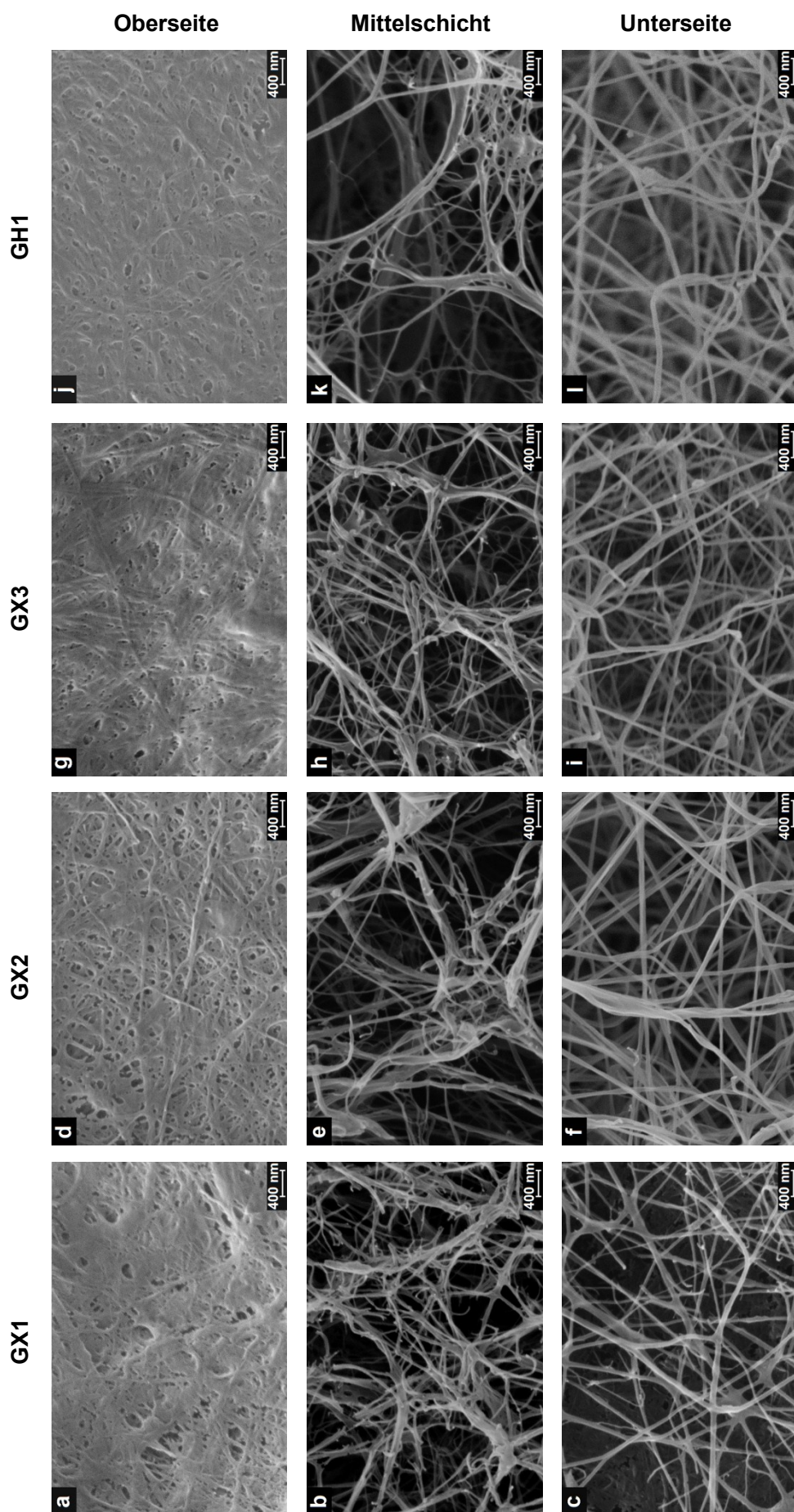


Abb. 13: REM-Aufnahmen der Oberseite (a, d, g und j), der Mittelschicht (b, e, h und k) sowie der Unterseite (c, f, i und l) von gefriergetrockneter BNC der 4 untersuchten Bakterienstämme GX1 (a-c), GX2 (d-f), GX3 (g-i) und GH1 (j-l) bei 10000-facher Vergrößerung.

Die Oberseiten besitzen durch die partielle Lufttrocknung an der Grenzfläche Kultivierungsmedium und Luft eine verdichtete Struktur (Faser-Aggregationen) mit kleineren Poren (Abb.A2 und Tab.A1, Anhang).³⁰ Im Gegensatz dazu stehen die Unterseiten der Vliese. BNC in diesem Bereich des Vlieses entsteht innerhalb der ersten Kultivierungstage und ist durch eine lose und weit verzweigte Netzwerkstruktur charakterisiert.³⁰ Die Ausbildung von Unter- und Oberseite der BNC-Vliese ist unabhängig vom jeweiligen Bakterienstamm und durch die Kultivierungsart begründet. Die mittlere Schicht wird durch die nanofibrillare und hochporöse Netzwerkstruktur charakterisiert. Die einzelnen BNC-Fasern sind zufällig angeordnet, was auf die freie Bewegung der Bakterienzellen im Medium während der Kultivierung zurückgeführt werden kann.¹⁵ Die BNC-Faserdurchmesser der unterschiedlichen Bakterienstämme bewegen sich im Bereich von 30 bis 90 nm (Tab.5). Zwar entspricht das laut Literatur den typischen Durchmessern,^{1,13,25,34} dennoch zeigen die Werte in Verbindung mit den REM-Aufnahmen, dass GX2 und GH1 tendenziell dickere BNC-Fasern und dementsprechend ungleichmäßigere Netzwerkstrukturen ausbilden. Das spiegelt sich auch in einer breiteren Verteilung der durchschnittlichen BNC-Faserdurchmesser d_F wider. Hingegen bilden GX1 und GX3 BNC mit homogenen und feineren supramolekularen Strukturen (Abb.13b und h).

Probe	GX1	GX2	GX3	GH1
d_{P-MAX} [μm]	6,63	7,63	6,26	14,62
d_P [μm]	1,76	2,56	1,71	3,08
$A_{P\%}$ [%]	47,3 \pm 5,6	59,0 \pm 5,5	49,5 \pm 5,4	61,2 \pm 5,9
d_F [nm]	56 \pm 13	60 \pm 20	52 \pm 13	61 \pm 27

Tab.5: Durch das Bildbearbeitungsprogramm ImageJ bestimmter maximaler Porendurchmesser d_{P-MAX} , mittlerer Porendurchmesser d_P , prozentualer Flächenanteil der Poren $A_{P\%}$ sowie der mit dem Programm AxioVision ermittelte durchschnittliche BNC-Faser-Durchmesser d_F der mittleren Schicht von BNC der 4 Bakterienstämme GX1, GX2, GX3 und GH1 (Abb.13b, e, h und k).

Die supramolekulare Netzwerkarchitektur kann durch die Einbeziehung des Poren- und Tunnelsystems veranschaulicht werden. Die aus den REM-Aufnahmen der mittleren Schicht (Abb.14a, c, e und g) generierten Porenverteilungen zeigen (Abb.14b, d, f und h), dass die Porengrößen vom nm-Bereich bis in den μm -Bereich reichen (Tab.5 und Abb.A1, Anhang). Der durchschnittliche Porendurchmesser d_P bewegt sich zwischen 1 und 3 μm . Das Poren- und Tunnelsystem von GX1 und GX3 ähnelt sich stark (Abb.14b und f). Deren maximaler Porendurchmesser d_{P-MAX} liegt im Bereich von 5 μm bis 10 μm (Porenfläche etwa 20 bis 25 μm^2), der in der Literatur für GX1 ebenfalls beschrieben wurde.^{1,6,25}

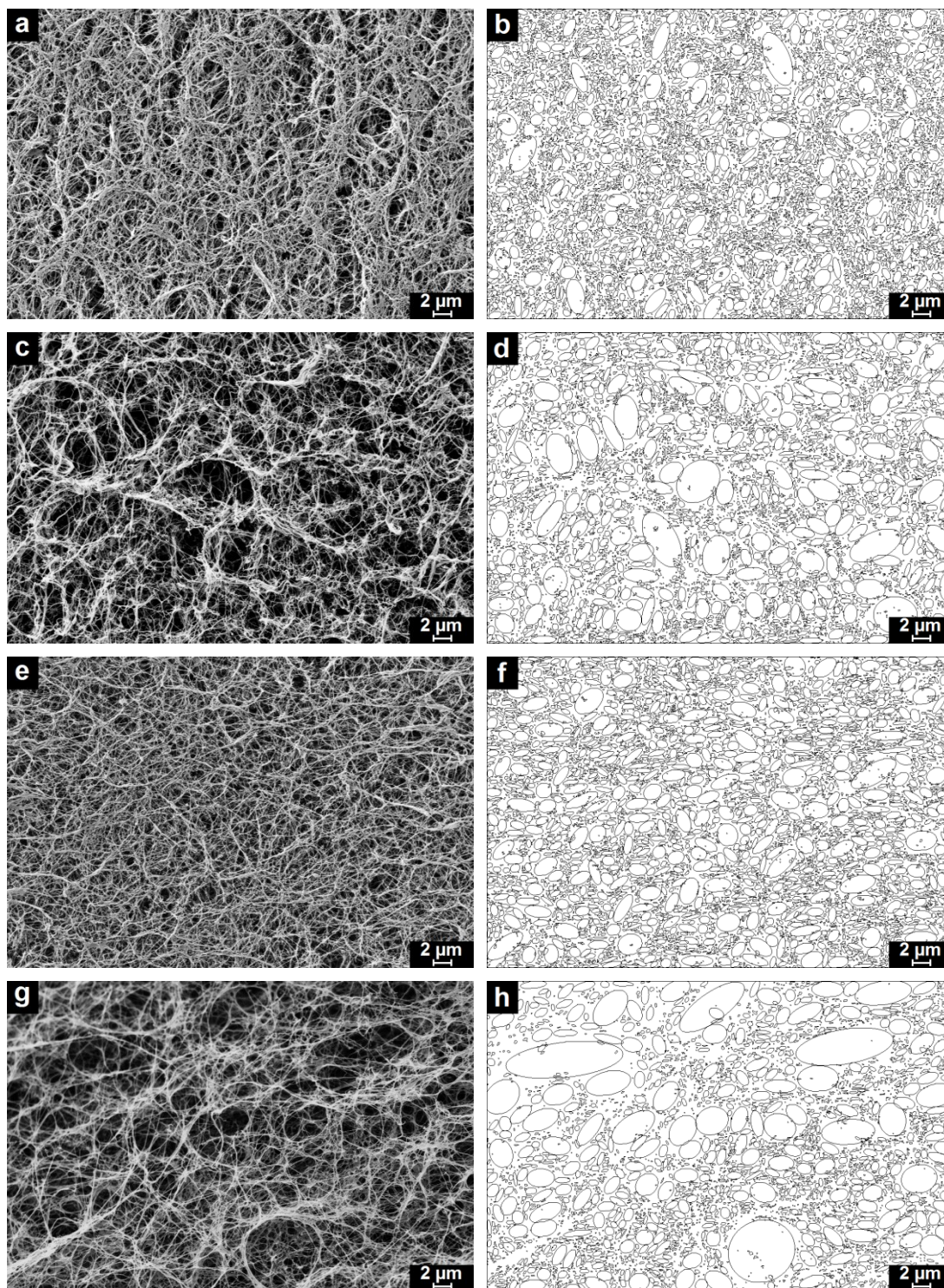


Abb.14: REM-Aufnahmen der mittleren Schicht (Querschnitt) von gefriergetrockneter BNC der 4 untersuchten Bakterienstämme a) GX1, c) GX2, e) GX3 und g) GH1 bei 1000-facher Vergrößerung (linke Spalte) sowie die mit ImageJ bestimmten Porenverteilungen für b) GX1, d) GX2, f) GX3 und h) GH1 (rechte Spalte).

BNC von GX2 und vor allem von GH1 weist einen größeren prozentualen Flächenanteil der Poren $A_{P\%}$ im Querschnitt auf (Tab.5). Ursache ist die größere Anzahl großer Poren, die bis zu 14 µm groß sein können (Abb.A1, Anhang). Dadurch ist auch erklärbar, dass

BNC von GH1 trotz annähernd gleicher Dicke im Vergleich zu GX1 oder GX3 eine so geringe Ausbeute besitzt (Tab.4). Bei GX2 hingegen ist der Anteil nur leicht erhöht. Jedoch ist das synthetisierte Vlies durch eine geringere Dicke (kleinerer Anteil der Mittelschicht) gekennzeichnet. Bei der Einbeziehung der Poren an Ober- und Unterseite sind kaum Unterschiede zwischen BNC unterschiedlicher Bakterienstämme feststellbar.

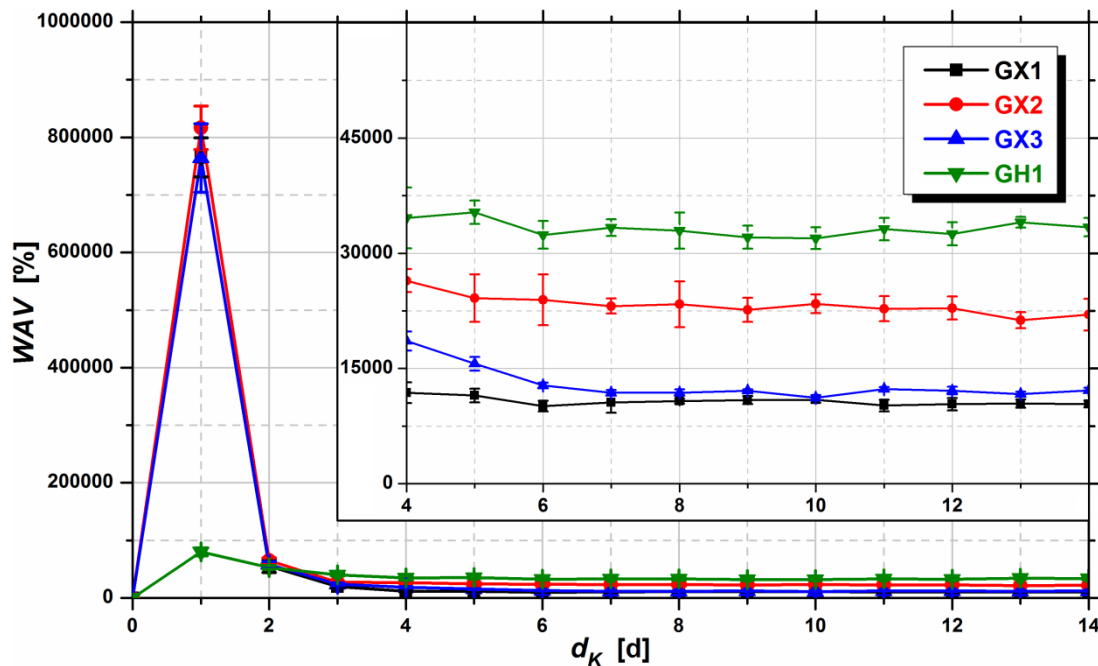


Abb.15: Wasseraufnahmevermögen WAV in Abhängigkeit von der Kultivierungszeit d_K von BNC der Bakterienstämme GX1, GX2, GX3 und GH1 (Insert: vergrößerte Darstellung des WAV für die Tage 4 bis 14).

Das durch die Poren beschriebene Tunnelsystem führt in Verbindung mit den an den BNC-Fasern zur Verfügung stehenden OH-Gruppen dazu, dass das Vlies eine große Wassermenge aufnehmen kann.^{25,63} Das WAV von GH1 ist aufgrund der großen Poren am größten (Tab.4). Das 334-fache der Trockenmasse kann an Wasser aufgenommen werden. Jedoch führen die geringe Ausbeute und die ungleichmäßige supramolekulare Struktur dazu, dass die Fähigkeit sinkt, dieses zurückhalten zu können. Dies spiegelt sich in einem niedrigeren WRV wider (Abb.11b und Tab.4). Weiterhin erfüllt das gebundene Wasser eine wichtige Rolle als Platzhalter und Stabilisierungselement,¹ sodass BNC von GH1 forminstabil wirkt (Abb.12d). BNC von GX1 und GX3 zeigt ähnliche Ausbeuten und eine vergleichbare Organisation der mittleren Schicht. Dadurch ist erklärbar, dass sie ein ähnliches WAV und WRV besitzen. Das WAV ist deutlich geringer als für den GX-Stamm GX2 und entspricht Literaturangaben.³⁸ Als Ursache sind die feinstrukturierte Netzwerkarchitektur und der höhere Cellulose-Anteil im Material zu nennen. Gleichzeitig kann das aufgenommene Wasser aufgrund der

supramolekularen Ordnung von GX1 und GX3 besser zurückgehalten werden. Dadurch ist deren WRV fast dreimal höher als das von GX2 (Tab.4).

Das WRV und das WAV sind vom Kultivierungstag abhängig. Bei allen Vliesen ist ein charakteristischer Verlauf erkennbar, der sich in Korrelation zum Biosynthese-Ablauf bringen lässt. Innerhalb der ersten Kultivierungstage ist das Material durch eine lose ungeordnete Struktur gekennzeichnet, die mit zunehmender Mittelschicht in eine strukturierte Anordnung übergeht. Dementsprechend bildet Wasser, das jedoch kaum zurückgehalten werden kann, zu Beginn der Biosynthese den Hauptbestandteil des Materials. Jedoch steigt das WRV (Abb.11b) bei gleichzeitiger Abnahme des WAV (Abb.15) mit steigender Kultivierungszeit und synthetisierter BNC-Trockenmasse. Bemerkenswert ist, dass das WAV von BNC des GH-Stamms GH1 nach zwei Kultivierungstagen aufgrund der kurzen Adaptionsphase deutlich kleiner ist, als das von BNC der GX-Stämme (Abb.15). Die größere Trockenmasse an Cellulose führt auch dazu, dass das WRV von GH1 innerhalb der ersten Kultivierungstage vergleichbar mit dem der GX-Stämme ist, ehe es deutlich geringere Werte annimmt (Abb.11b).

Probe	GX1	GX2	GX3	GH1
M_w [g/mol]	870000	626500	736800	443700
M_n [g/mol]	447600	149200	318700	125600
PDI	1,94	4,20	2,31	3,53
ν	-1,31	-1,03	-1,37	-0,71
γ	2,14	1,18	2,09	0,15
DP_n^1	2761	920	1966	775

Tab.6: Das aus der Molmassenverteilung bestimmte Massenmittel der Molmasse M_w und Zahlenmittel der Molmasse M_n , der zugehörige Polydispersitätsindex PDI , Schiefe ν und Exzess γ der Verteilung sowie der aus M_n bestimmte Polymerisationsgrad DP_n ($^1 M_{AGU} = 162,14$ g/mol) von GX1, GX2, GX3 und GH1.

Die supramolekulare Struktur, die während der Synthese gebildet wird, basiert auf ihrem molekularen Aufbau. BNC ist ein lineares Homopolymer, dessen Kettenlänge je nach Synthesebedingungen variiert. Dadurch ergeben sich unterschiedliche Verteilungen der im Material vorhandenen Glucan-Ketten. Die graphische Darstellung der Molmassen in Abbildung 16a zeigt eine schmale Verteilung für BNC der beiden GX-Stämme GX1 und GX3. Dies kann durch einen kleinen Wert für den Polydispersitätsindex ($PDI \approx 2$) und die Konzentration der bestimmten Molmassen um den Mittelwert (spitze Wölbung: $\gamma > 0$) betragsmäßig ausgedrückt werden (Tab.6). Als Konsequenz ist auch das gebildete BNC-Netzwerk von GX1 und GX3 durch eine regelmäßige Struktur der mittleren Schicht

ausgezeichnet. Die beiden Bakterienstämme produzieren Cellulose in hochmolekularer Form (2000 - 3000 AGU pro Glucan-Kette) was sich durch eine linksschiefe ($v < 0$) Verteilungskurve verstärkt. Deshalb ist das Massenmittel M_w bzw. das Zahlenmittel der Molmasse M_n mit großen Werten von 730000 g/mol bis 870000 g/mol bzw. 450000 g/mol bis 315000 g/mol anzugeben (Tab.6). Der aus M_n berechenbare Polymerisationsgrad DP_n beträgt 2000 bis 3000. Er ist vergleichbar mit Literaturangaben für BNC von GX und ist höher als für vergleichbare Cellulosematerialien wie Baumwoll-Linters ($DP_n = 1500 - 2000$) oder Zellstoff ($DP_n = 1500$).^{3,20,25,105} Der Bakterienstamm GX2 ist unter den standardisierten Synthesebedingungen unproduktiver und stellt dünnere BNC-Vliese her. Diese sind im Vergleich zu den anderen beiden GX-Stämmen durch kürzere Molmassen ($M_w = 626500$ g/mol) mit breiteren Verteilungen gekennzeichnet (Abb.16a und Tab.6).

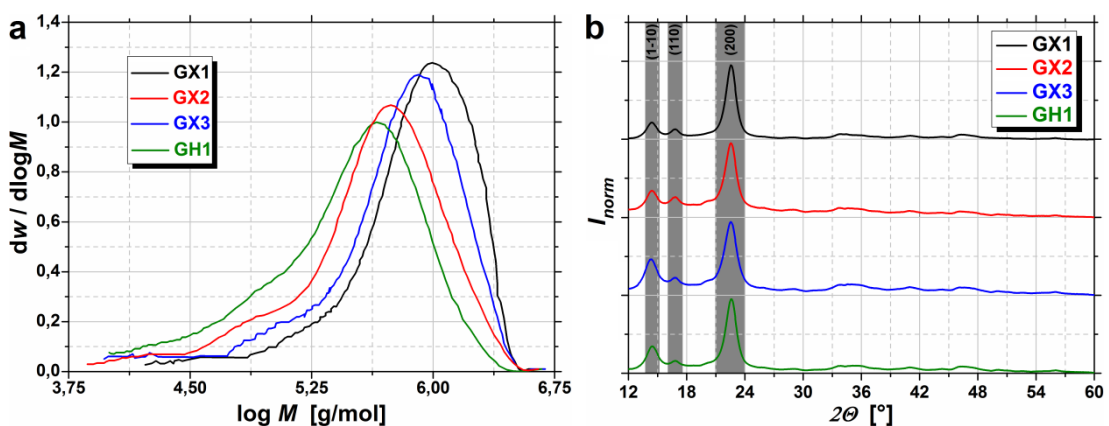


Abb.16: a) Molmassenverteilung von gefriergetrockneter, in LiCl-DMAc-Lösung gelöster BNC und b) normierte Intensitäts-Darstellung I_{norm} der Röntgenbeugungs-Diffraktogramme der mittleren Schicht von gefriergetrockneter BNC der 4 untersuchten Bakterienstämme GX1, GX2, GX3 und GH1 (die jeweiligen Bereiche von den Reflexen der Cellulose-Modifikation / sind dunkelgrau hinterlegt).

Der GH-Stamm GH1 unterscheidet sich von den GX-Stämmen. Die Bildung während der Synthese ist unregelmäßiger. Nach einer schnellen initialen Phase verlangsamt sich die Trockenmassebildung deutlich. Die schnelle Polymerisation innerhalb von 48 Stunden nach Synthesebeginn ist bereits in der Literatur beschrieben wurden.¹²⁸ Durch die anschließende Verlangsamung entstehen inhomogenere Kettenlängenverteilungen, welche durch eine höhere Polydispersität ausdrückbar sind ($PDI = 3,5$). Zudem ist die Verteilung zu kürzeren Molmassen verschoben (Abb.16a). Die breitere Molmassenverteilung (größter v -Wert) ist besonders auf die höheren Anteile niedermolekularer Glucan-Ketten zurückzuführen (γ -Wert am kleinsten). Diese lässt erkennen, dass sehr viele niedermolekulare Segmente und wenige höhermolekulare Segmente miteinander verknüpft sind. Dadurch entsteht die mittels REM dargestellte unregelmäßigere Netzwerkmorphologie.

Die GPC-Untersuchungen zeigen zudem, dass der DP_n und die Molmassen in Abhängigkeit vom Bakterienstamm variieren. Dieser Zusammenhang konnte ebenfalls in der Literatur nachgewiesen werden.^{25,128}

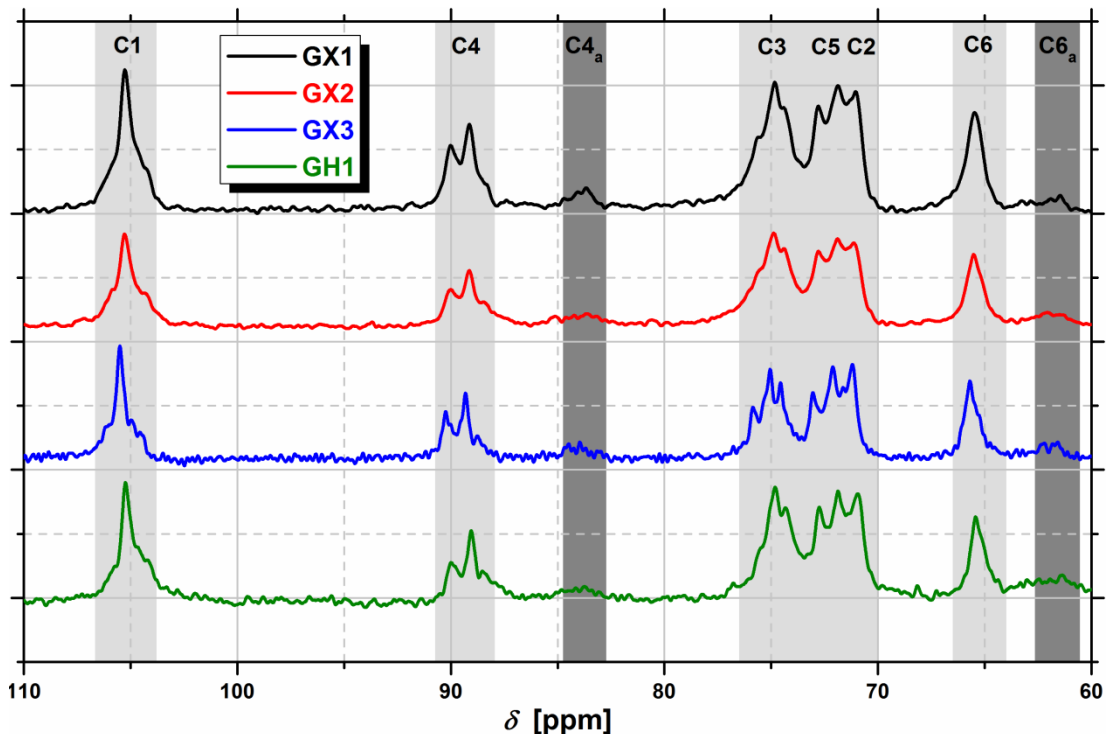


Abb.17: CP/MAS ^{13}C -NMR-Spektren von *never-dried* Proben der 4 untersuchten Bakterienstämme GX1, GX2, GX3 und GH1 (die jeweiligen Bereiche der ^{13}C -chemischen Verschiebungen δ der 6 Kohlenstoffatome der AGU sind grau hinterlegt,^{28,108} die C4- und C6-Atome weisen zudem einen amorphen Anteil (C4_a bzw. C6_a sind dunkelgrau hinterlegt) auf (Tab.A4, Anhang)).

Die aus den Glucan-Ketten aufgebauten Elementarfibrillen besitzen die starke Tendenz zu aggregieren und höhergeordnete fibrillare Strukturen zu bilden (Kristallisationsprozess). Durch ein System von intra- und intermolekularen Wasserstoffbrückenbindungen entsteht ein Faserverband, der durch amorphe und kristalline Bereiche gekennzeichnet ist. Die scharfen schmalen Peaks in Abbildungen 16b und 17 zeigen, dass es sich bei BNC-Fasern um ein hochkristallines Material handelt. Den berechneten Werten ist zu entnehmen, dass sich die Kristallinität D_c im Bereich von 72 % (GH1) bis 84 % (GX1) bewegt. Das berechnete Verhältnis aus den Modifikationen I_α und I_β bewegt sich im Bereich zwischen 1,9 : 1,0 und 2,9 : 1,0 (Tab.7).

Neben den NMR-Untersuchungen wurden auch die XRD-Untersuchungen verwendet. In den Diffraktogrammen der Ober- und Unterseiten (Abb.A17, Anhang) als auch in denen der mittleren Schicht (Abb.16b) werden die Reflexe der kristallinen Cellulose der Modifikation I bei $2\Theta = 14,4^\circ$, $16,8^\circ$ und $22,6^\circ$, welche nach der Konvention von Sarko & Muggli zu den (1-10), (110) und (200) Ebenen der Cellulose I Modifikation

gehören, sichtbar.^{34,59,63,65,129} Die Kristallinität ist trotz der Abhängigkeit von der verwendeten Berechnungsgrundlage mit Werten von $D_{c-I} = 83 - 92 \%$ bzw. $D_{c-P} = 68 - 73 \%$ sehr hoch. Die Intensitätsmethode ist laut Literatur eine einfache und zeitsparende Methode, bei der die Kristallinität D_{c-I} jedoch überbestimmt ist.¹¹¹ Trotzdem konnten mit beiden Methoden die gleichen Relationen bestimmt werden.

Probe	GX1	GX2	GX3	GH1
Modifikation I_α [%]	41 ± 1	38 ± 2	35 ± 1	37 ± 2
Modifikation I_β [%]	14 ± 1	19 ± 1	14 ± 1	20 ± 2
I_α / I_β	$2,9 \pm 0,3$	$2,0 \pm 0,2$	$2,5 \pm 0,3$	$1,9 \pm 0,3$
D_c [%]	84 ± 1	76 ± 1	80 ± 1	72 ± 2
D_{c-P} [%]	92 ± 1	84 ± 1	87 ± 1	83 ± 1
D_{c-I} [%]	73 ± 1	69 ± 2	71 ± 2	68 ± 1

Tab.7: Berechnete Anteile von Cellulose I_α bzw. I_β und die Kristallinität D_c auf der Basis der CP/MAS ^{13}C -NMR-Spektren (Tab.A4, Anhang) sowie die aus dem Röntgendiffraktogramm nach der Peak-Intensitäts-Verhältnis-Methode D_{c-P} und der Integrationsmethode D_{c-I} bestimmte Kristallinität von BNC der Bakterienstämme GX1, GX2, GX3 und GH1.

Der Unterschied zwischen BNC der einzelnen Bakterienstämme ist jedoch nicht sehr groß. Dennoch ist BNC von GX1 durch eine höhere Kristallinität gekennzeichnet (Tab.7). Diese Werte entsprechen auch den in der Literatur nach der Peak-Intensitäts-Verhältnis-Methode D_{c-P} und der Integrationsmethode D_{c-I} berechneten Werten.^{34,111} Die Ergebnisse der Ober-, Unterseiten und Mittelschichten zeigen die gleichen Kristallinitäten. Im Vergleich zu den NMR-Kristallinitäten (D_c) sind die D_{c-I} -Werte reduziert. Der Unterschied beträgt etwa 11 %. Die beiden Untersuchungsmethoden verwenden Proben im *never-dried* (D_c) und im *freeze-dried* (D_{c-I}) Zustand. Das zeigt, dass die bestimmbare Kristallinität von BNC vom verwendeten Trocknungsprozess abhängt.¹³⁰

4.1.3. Mechanische Eigenschaften von BNC

Im Rahmen der Zugfestigkeitsuntersuchungen konnte aus dem Spannungs-Dehnungs-Diagramm der typische Verlauf für BNC bestimmt werden.

Der Spannungsaufbau hängt vom verwendeten Bakterienstamm ab. Diese Aussage korrespondiert mit Literaturaussagen für luft- und gefriergetrocknete BNC.¹³¹ Aus Abbildung 18a ist zu entnehmen, dass BNC des GX-Stamms GX1 die höchsten Zugfestigkeitswerte aufweist. Ähnliche Zugfestigkeiten werden von GX3 erreicht.

Deutlich geringere Festigkeiten besitzt BNC der beiden Bakterienstämme GH1 und GX2 (Tab.8).

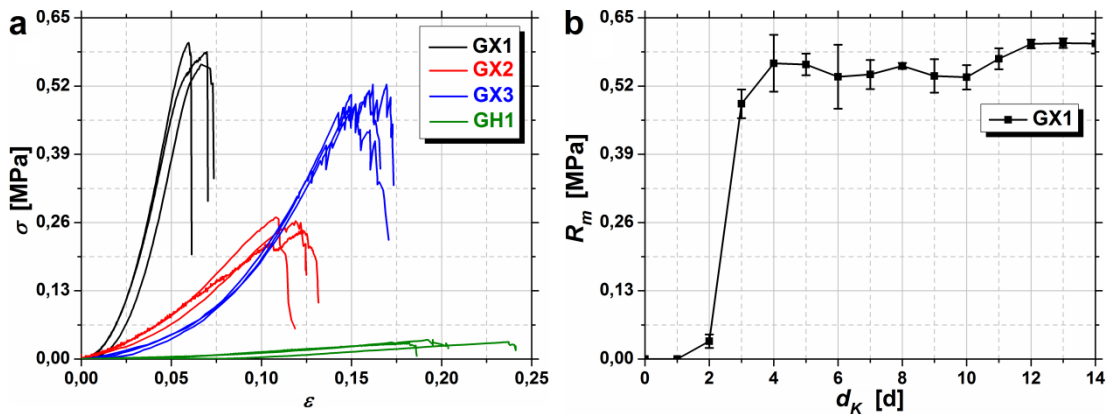


Abb.18: a) Spannungs-Dehnungs-Diagramm von BNC der 4 untersuchten Bakterienstämme GX1, GX2, GX3 und GH1 nach einer Kultivierungszeit d_K von 14 Tagen und b) die bestimmte Zugfestigkeit R_m von BNC des Bakterienstamms GX1 in Abhängigkeit von der Kultivierungszeit d_K .

Bei der Durchführung des Tests steigt die Spannung kontinuierlich bis zum abrupten Versagen der Proben. Dieses Verhalten ist sehr markant für die GX-Stämme ausgeprägt.

Probe	GX1	GX2	GX3	GH1
R_m [MPa]	$0,583 \pm 0,021$	$0,251 \pm 0,012$	$0,511 \pm 0,010$	$0,033 \pm 0,003$
ϵ_m	$0,065 \pm 0,005$	$0,114 \pm 0,009$	$0,160 \pm 0,010$	$0,204 \pm 0,029$

Tab.8: Aus dem Zugversuch ermittelte Zugfestigkeit R_m und die zugehörige Dehnung bei R_m (ϵ_m) nach einer Kultivierungszeit d_K von 14 Tagen von BNC der 4 Bakterienstämme GX1, GX2, GX3 und GH1.

Durch die Einbeziehung des Bruchbereichs von GX1 wird sichtbar (Abb.19a), dass es sich um ein Versagen von Fasern und daraus gebildeten dichteren Faserbündeln handelt. Die Verdichtung der Struktur wird bei höherer Vergrößerung besser erkennbar (Abb.19b).⁴¹ Zudem lässt sich eine Orientierung in Deformationsrichtung in der mittleren Schicht des BNC-Fasernetzwerks erkennen. Diese ist in der oberen Schicht des Materials nicht so markant ausgeprägt (Abb.19c), da die BNC-Fasern durch die synthesespezifische Lufttrocknung bereits stärker aggregiert vorliegen.

Ähnlich Ergebnisse konnten für den GX-Stamm GX3 gefunden werden (Abb.A12a, Anhang). Die einzelnen Schichten des Vlieses sind stark verdichtet. Jedoch fällt bei diesem auf, dass die Vernetzung zwischen den einzelnen Schichten nach der Durchführung des Tests im Vergleich zu GX1 nicht mehr so stark ausgeprägt ist. Die Untersuchung des BNC-Netzwerks von GH1 zeigt, dass das Porensystem weniger stark

orientiert und komprimiert wirkt (Abb.A12b, Anhang). Teilweise ist das unregelmäßigere native Netzwerk noch zu erkennen.

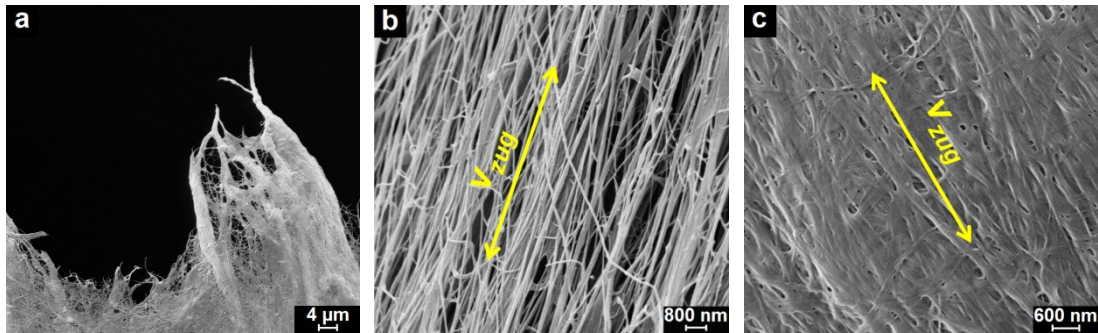


Abb.19: REM-Aufnahmen von den gefriergetrockneten BNC-Proben des Bakterienstamms GX1 nach der Durchführung der Zugfestigkeitsuntersuchung vom a) Bruchbereich (500-fache Vergrößerung), b) Querschnitt längs zur Deformationsrichtung (Richtung von v_{zug} , 3000-fache Vergrößerung) und c) von der obersten Schicht des Prüfkörpers (Richtung von v_{zug} , 5000-fache Vergrößerung).

Im Rahmen der Zugfestigkeitsuntersuchungen wurde der Einfluss unterschiedlicher Deformationsgeschwindigkeiten v_{zug} auf die Zugfestigkeit R_m von GX1 betrachtet. Die ermittelten Kurvenverläufe zeigen (Abb.A11, Anhang), dass diese im berücksichtigten Geschwindigkeitsbereich unverändert bleibt (Tab.9).

v_{zug} [mm/min]	10	25	50	100
R_m [MPa]	$0,584 \pm 0,058$	$0,565 \pm 0,032$	$0,593 \pm 0,022$	$0,570 \pm 0,038$
ϵ_m	$0,058 \pm 0,004$	$0,059 \pm 0,007$	$0,061 \pm 0,005$	$0,059 \pm 0,036$

Tab.9: Aus dem Zugversuch ermittelte Zugfestigkeit R_m und Dehnung bei R_m (ϵ_m) von BNC des Bakterienstamms GX1 bei unterschiedlichen Deformationsgeschwindigkeiten v_{zug} .

Die kultivierungszeitabhängigen Untersuchungen der Zugfestigkeit von GX1 sind in Abbildung 18b dargestellt. Der Verlauf ist vergleichbar mit dem der Ausbeute-Untersuchungen. Grundlage bildet die Abhängigkeit des molekularen und supramolekularen Vlies-Aufbaus von der Kultivierungszeit. Nach den initialen Schritten der Synthese, bei dem kleine BNC-Mengen in hochwasserhaltiger (hohes WAV: Abb.15 und geringe Trockenmasse: Abb.11a) und unstrukturierter Form (geringes WRV: Abb.11b) vorliegen, entsteht die mittlere Schicht des Polymers. Diese führt auf Grundlage ihres nanostrukturierten Charakters zur Erhöhung des WRV und zur Erniedrigung des WAV. Mit zunehmender Kultivierungszeit nimmt die Mittelschicht zu und stellt den Großteil des Vlieses dar. Durch den schichtweisen Aufbau des Vlieses entstehen mit zunehmender Kultivierungszeit zwar miteinander verbundene Schichten, deren Ausbildung bleibt jedoch charakteristisch für die Synthese. Aus diesem Grund

bleibt die Festigkeit, welche nach 3-tätiger Kultivierungszeit erreicht wurde ($R_m = 0,486 \pm 0,027$ MPa), bis zum Abschluss der Synthese nahezu unverändert (Abb.18b).

Die Untersuchung des Kompressionsverhaltens von BNC der verschiedenen Bakterienstämme ist in Abbildung 20a dargestellt. Auch hier ist ein charakteristischer Kurvenverlauf für BNC erkennbar. Der Aufbau der Spannung ist vom verwendeten Bakterienstamm abhängig. Bei allen Proben wird das Wasser mit steigender Stauchung allmählich aus dem Prüfkörper herausgepresst. Diese Beobachtungen wurden auch in der Literatur beschrieben.^{41,69} Zudem konnte bei keiner Probe ein Versagen beobachtet werden. Aus diesem Grund können für die Druckfestigkeit keine konkreten Werte angegeben werden. Es wird sich auf die Angabe der Druckspannung bei einer Stauchung von 50 % bezogen.¹³²

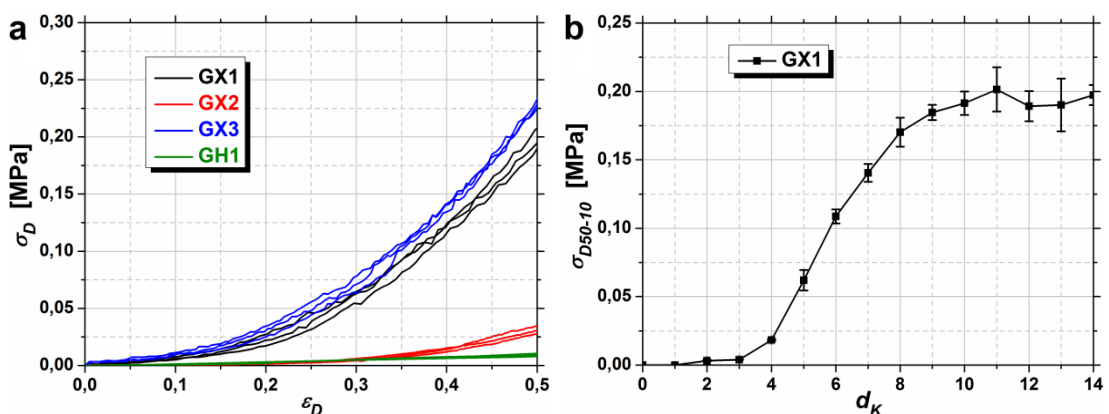


Abb.20: a) Druckspannungs-Stauchungs-Diagramm von BNC der 4 untersuchten Bakterienstämme GX1, GX2, GX3 und GH1 nach einer Kultivierungszeit d_K von 14 Tagen sowie b) die Druckspannung bei 50 % Stauchung und einer Kompressionsgeschwindigkeit v_{druck} von 10 mm/min (σ_{D50-10}) von BNC des Bakterienstamms GX1 in Abhängigkeit von der Kultivierungszeit d_K .

Die Ergebnisse zum Kompressionsverhalten offenbaren die gleichen Relationen der *Gluconacetobacter*-Stämme untereinander wie bei der Ermittlung der Zugfestigkeit. BNC von GX1 und GX3 verhält sich sehr ähnlich und baut bei 50% Stauchung die höchsten Druckspannungen auf (Tab.10). BNC von GX2 und GH1 besitzt eine deutlich geringere Druckspannung, wobei diese für GH1 kaum messbar ist. Die erhaltenen Werte für GX2 entsprechen bereits bestimmten Werten in der Literatur.³⁸ Auch der Kurvenverlauf ist konform.

Bei der Berücksichtigung unterschiedlicher Kompressionsgeschwindigkeiten wird ein beschleunigter Druckaufbau bei der Verwendung höher Deformationsgeschwindigkeiten deutlich (Tab.10 und Abb.A13b, Anhang). Demzufolge stellt der Wassertransport im Netzwerk einen Faktor dar, der die mechanischen Eigenschaften beeinflusst.⁴¹ Dieser Einfluss ist für alle untersuchten Bakterienstämme erkennbar. Er wird durch die Morphologie, im Besonderen durch das WRV, bestimmt. Als Folge muss bei den Untersuchungen zum Kompressionsverhalten eine festgelegte

Deformationsgeschwindigkeit verwendet werden, damit die Ergebnisse miteinander vergleichbar sind.

Um das Kompressionsverhalten genauer zu untersuchen, wurden die Proben bis zu einem definierten Wert komprimiert und die entstandene Strukturänderung mittels REM charakterisiert. Die entsprechenden Kurvenverläufe und die zugehörigen Netzwerkausbildungen bei definierter Dehnung sind am Beispiel von GX1 in den Abbildungen 21 und A13a (Anhang) dargestellt.

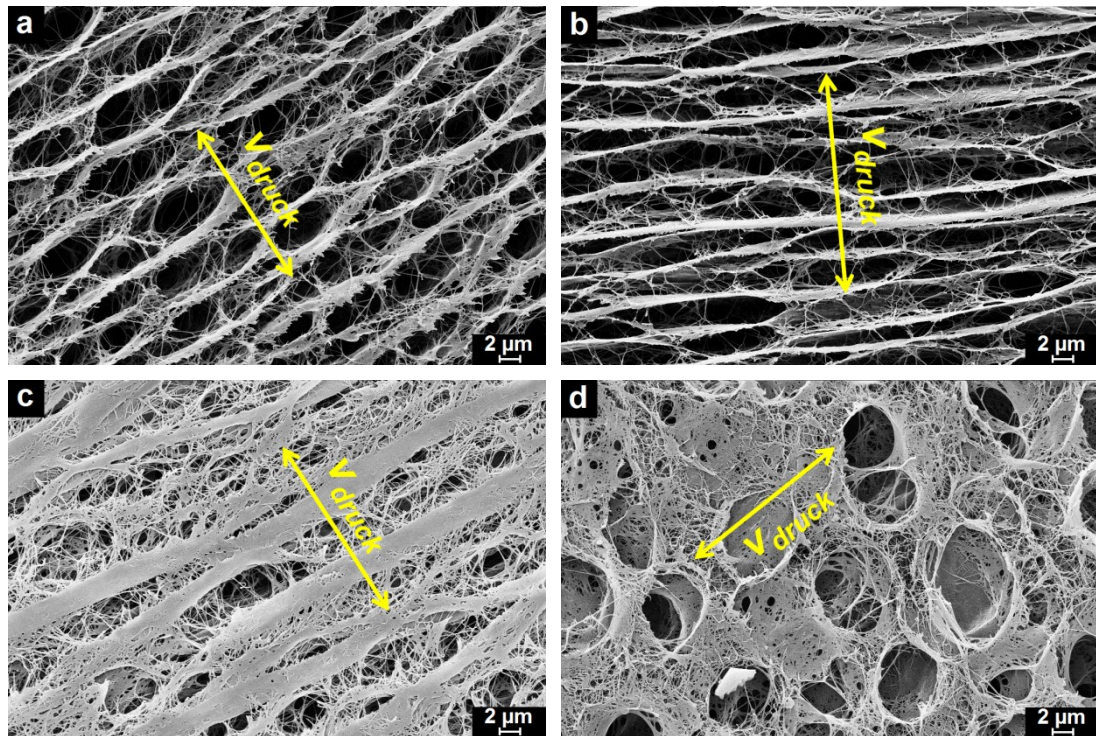


Abb.21: REM-Aufnahmen aus der mittleren Schicht von den gefriergetrockneten BNC-Proben des Bakterienstamms GX1 bei 1000-facher Vergrößerung nach der Durchführung des Kompressionstests (Kompressionsgeschwindigkeit $v_{druck} = 10 \text{ mm/min}$) bei a) 23 %, b) 47 %, c) 59 % und d) 73 % Stauchung (Abb.A13a, Anhang, Stauchung entlang Richtung v_{druck}).

Die native Struktur wird mit zunehmender Deformation immer kompakter. Dabei werden die Poren im Vergleich zu unbelasteter BNC durch die Deformation auf 23 % ($\sigma_D = 0,017 \text{ MPa}$, Abb.21a) bzw. 47 % ($\sigma_D = 0,159 \text{ MPa}$, Abb.21b) immer abgeflachter. Bei der Unterbrechung der Tests erholen sich die Proben nur geringfügig. Sie zeigen dementsprechend kaum elastisches Verhalten. Vielmehr besitzen sie einen stark viskosen Anteil.^{41,69} Bereits geringe Stauchgrade führen zur strukturellen Umordnung der Netzwerkstruktur, die mit zunehmender Stauchung immer signifikanter wird. Bei sehr hohen Kompressionsgraden von 59 % ($\sigma_D = 0,296 \text{ MPa}$, Abb.21c) verschwindet das Porensystem fast komplett. Außerdem wird eine Lagenstruktur deutlich erkennbar. Diese Schichten sind dichter als die Bereiche zwischen ihnen und lassen sich auf das schrittweise Syntheseprinzip einzelner BNC-Schichten zurückzuführen. Diese

strukturellen Veränderungen führen auch dazu, dass die Reuell-Eigenschaften verschlechtert werden. Die Proben nehmen nicht wieder die ursprüngliche Wassermenge auf.^{41,133} Eine weitere Stauchung bis auf 73 % ($\sigma_D = 0,652$ MPa, Abb.21d) hat zur Folge, dass nur noch vereinzelte Poren zu erkennen sind. Diese deuten darauf hin, dass durch sie das restliche im Vlies verbliebene Wasser austritt.

Probe	GX1	GX2	GX3	GH1
σ_{D50-10} [MPa]	$0,197 \pm 0,007$	$0,031 \pm 0,003$	$0,228 \pm 0,003$	$0,010 \pm 0,001$
σ_{D50-05} [MPa]	$0,123 \pm 0,008$	$0,021 \pm 0,001$	$0,127 \pm 0,006$	---
σ_{D50-01} [MPa]	$0,041 \pm 0,003$	$0,009 \pm 0,001$	$0,035 \pm 0,001$	---

Tab.10: Aus den Kompressionsuntersuchungen ermittelte Druckspannung bei 50 % Stauchung in Abhängigkeit von der Kompressionsgeschwindigkeit v_{druck} von 10 mm/min (σ_{D50-10}), 5 mm/min (σ_{D50-05}) und 1 mm/min (σ_{D50-01}) für BNC der 4 untersuchten Bakterienstämme GX1, GX2, GX3 und GH1.

Die Untersuchung des Kompressionsverhaltens in Abhängigkeit von der Kultivierungszeit ist in Abbildung 20b dargestellt. Bis zum 3. Kultivierungstag ist die Druckspannung bei 50 % Stauchung sehr gering, ehe sie bis zum 8. Tag stark zunimmt. Danach werden Spannungen erreicht, die dem Spannungswert nach einer 14-tägigen Kultivierung entsprechen ($\sigma_{D50-10} = 0,197 \pm 0,007$ MPa).

4.2. *In situ*-Herstellung photokatalytisch aktiver BNC-TiO₂-Hybride

4.2.1. Chemisch-strukturelle Materialeigenschaften

Die *in situ*-Modifizierung wurde bei der BNC-Synthese vom GX-Stamm DSM 14666 durchgeführt. Im Rahmen der Verfahrensentwicklung eines photokatalytisch aktiven Hybridmaterials ist zu beachten, dass die Zugabe von Anatas-Nanopartikeln zum Kultivierungsmedium die molekulare und supramolekulare Struktur des entstehenden Materials *in situ* beeinflusst.

Abbildung 22 zeigt die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen von BNC und der BNC-TiO₂-Hybride, welche mit Kultivierungsmedien unterschiedlicher Anatas-Nanopartikel-Konzentrationen präpariert wurden. Die Aufnahmen stammen von der Oberseite (Abb.22a, d, g und j), der mittleren Schicht (Abb.22b, e, h und k) und der Unterseite (Abb.22c, f, i und l) der Vliese. Sie zeigen, dass der anisotrope Aufbau von BNC, welcher aufgrund der Standkultivierung charakteristisch ist,³⁰ durch die *in situ*-Modifizierung nicht beeinflusst wird.

Probe	T00	T05	T10	T20
d_{P-MAX} [μm]	7,15	6,11	10,04	11,30
d_P [μm]	3,10 ± 1,40	3,60 ± 1,40	4,40 ± 2,10	4,30 ± 2,00
$A_{P\%}$ [%]	57,2 ± 6,1	56,4 ± 6,2	64,7 ± 5,4	65,6 ± 5,4
d_F [nm]	64 ± 19	66 ± 20	69 ± 39	76 ± 38

Tab.11: Durch das Bildbearbeitungsprogramm ImageJ bestimmter maximaler Porendurchmesser d_{P-MAX} , mittlerer Porendurchmesser d_P und prozentualer Flächenanteil der Poren $A_{P\%}$ sowie der mit dem Programm AxioVision ermittelte durchschnittliche BNC-Faser-Durchmesser d_F von den BNC-TiO₂-Hybriden T00, T05, T10 und T20 in deren mittleren Schicht (Abb.22 und Abb.A3, Anhang).

Alle Hybride sind durch eine dichte Oberseite, eine lose Unterseite und durch die nanofibrillare Netzwerkstruktur in der Mittelschicht charakterisiert. Die durchschnittlichen Faserdurchmesser bewegen sich im Bereich zwischen 60 nm und 80 nm, was dem von unmodifizierter BNC entspricht (Tab.11). Jedoch ist eine tendenzielle Zunahme der Durchmesser mit steigender Anatas-Konzentration im Kultivierungsmedium zu erkennen. Die REM-Aufnahmen zeigen (Abb.22b, e, h und k), dass die BNC-Fasern in Gegenwart der Nanopartikel eine verstärkte Tendenz zur Aggregation besitzen. So steigt der Faserdurchmesser von $d_F = 64$ nm für T00 bis auf $d_F = 76$ nm für T20 an. Zudem legt die große Streuung bei T20 nahe, dass die Faserdurchmesser unregelmäßige Größen besitzen und stark variieren (Tab.11).

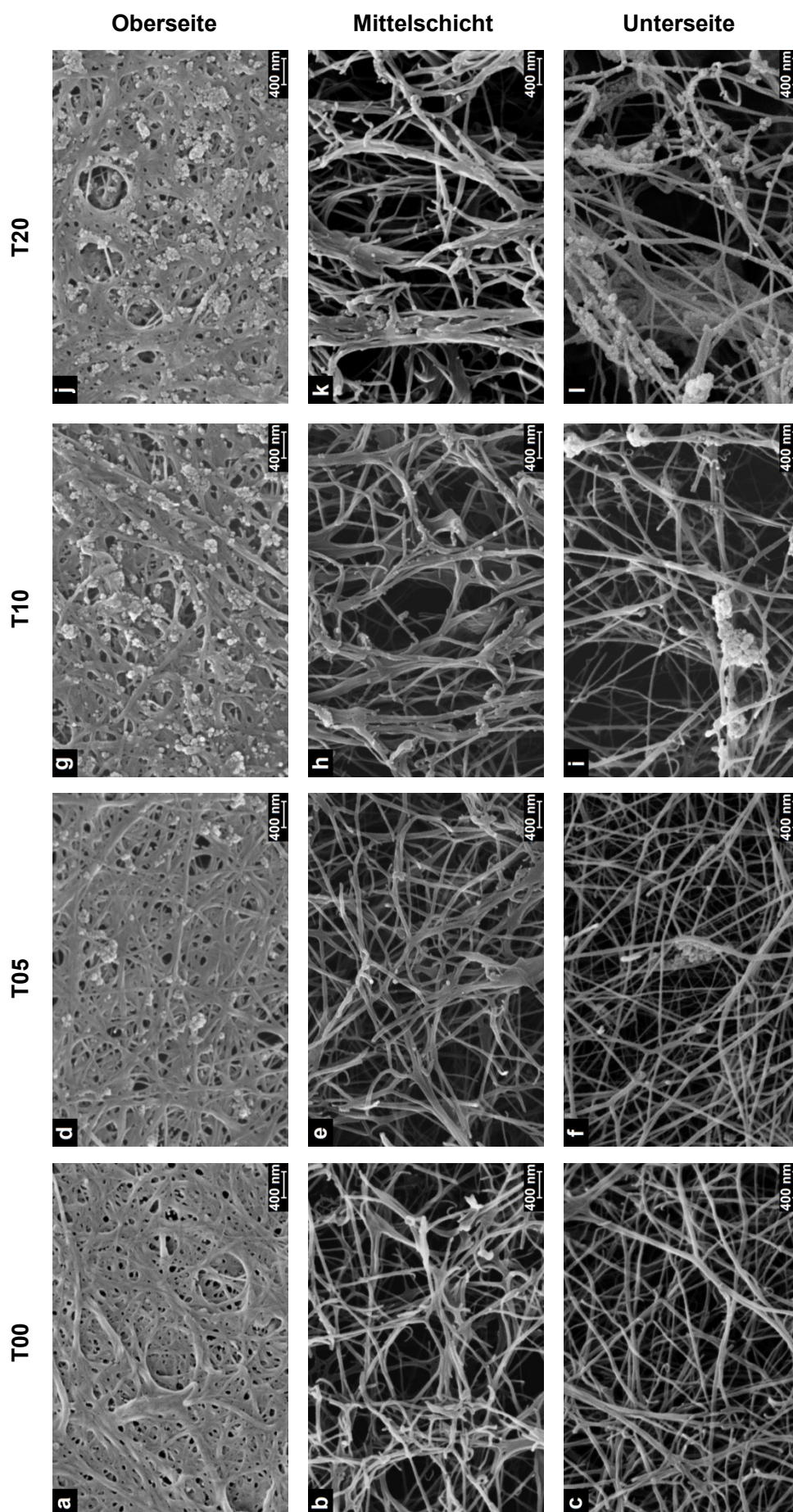


Abb. 22: REM-Aufnahmen der Oberseite (a, d, g und j), der Mittelschicht (b, e, h und k) sowie der Unterseite (c, f, i und l) von den gefriergetrockneten BNC-TiO₂-Hybriden T00 (a-c), T05 (d-f), T10 (g-i) und T20 (j-l) bei 10000-facher Vergrößerung.

Die Faser-Aggregation ist von der Zunahme der maximalen Porendurchmesser begleitet. Mit steigender Anatas-Konzentration vergrößern sich die maximalen Porendurchmesser auf bis zu 11 μm (Tab.11 und Abb.A3, Anhang). Es entsteht ein Porensystem mit größeren mittleren Porendurchmessern von über 4 μm . Zudem nimmt der prozentuale Anteil der Poren in der mittleren Schicht mit steigender Anatas-Konzentration im Kultivierungsmedium zu (Tab.11).

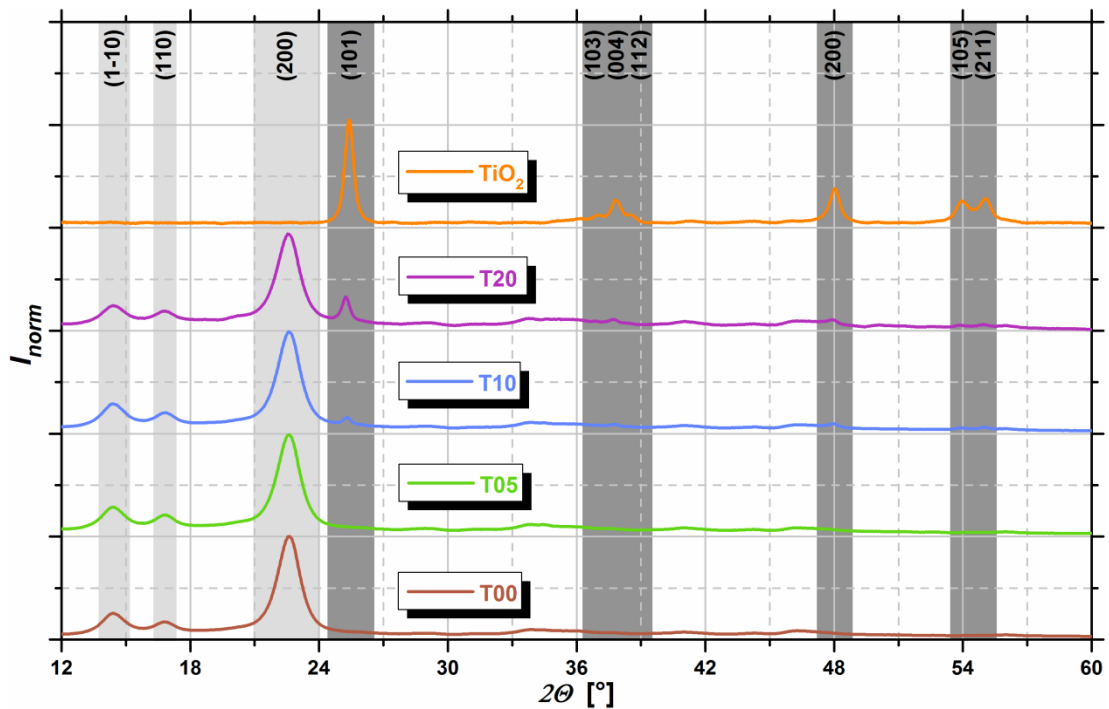


Abb.23: Röntgenbeugungs-Diffraktogramme der mittleren Schicht von den gefriergetrockneten BNC-TiO₂-Hybriden T00, T05, T10 und T20 sowie von den LAVA-Nanopartikeln (die Bereiche der Reflexe der Cellulose-Modifikation / sind hellgrau und die der Anatas-Modifikation sind dunkelgrau hinterlegt).

Bei der Durchführung der EDX-Analysen können die charakteristischen Peaks von Titan ($E_{K\alpha1} = 4,511 \text{ keV}$, $E_{K\beta1} = 4,932 \text{ keV}$), Sauerstoff ($E_{K\alpha1} = 0,525 \text{ keV}$) und der verwendeten Gold-Beschichtung ($E_{Mx} = 1,661 \text{ keV}$, $E_{Ma12} = 2,123 \text{ keV}$ und $E_{La1} = 9,713 \text{ keV}$) identifiziert werden (Abb.A10, Anhang).^{58,126,134}

Probe	T00	T05	T10	T20
$D_{c-P} [\%]$	91 ± 1	89 ± 1	90 ± 1	88 ± 1
$D_{c-I} [\%]$	71 ± 1	71 ± 1	70 ± 1	69 ± 1

Tab.12: Die nach der Peak-Intensitäts-Verhältnis-Methode D_{c-P} und nach der Integrationsmethode D_{c-I} bestimmte Kristallinität von den BNC-TiO₂-Hybriden T00, T05, T10 und T20.

Bei der Einbeziehung röntgendiffraktometrischer Untersuchungen treten neben den Reflexen von unmodifizierter BNC (Abb.16b: $2\theta = 14,5^\circ$, $16,6^\circ$ und $22,7^\circ$)^{34,63}

zusätzliche Reflexe bei $2\Theta = 25,3^\circ, 37,0^\circ, 37,8^\circ, 38,6^\circ, 48,1^\circ, 53,9^\circ$ und $55,1^\circ$ für die BNC-TiO₂-Hybride auf. Diese sind den (101), (103), (004), (112), (200), (105) und (211) Ebenen der Anatas-Modifikation zuzuordnen (Abb.23).^{78,99,120,135} Die jeweiligen Reflexe sind in allen Schichten des Hybrids erkennbar (Abb.23, Abb.A18 und Abb.A19, Anhang). Deren Intensität nimmt mit steigender Konzentration der Nanopartikel in allen Schichten zu. Die Bestimmung der Kristallinität aus den Diffraktogrammen mit Hilfe der Peak-Intensitäts-Verhältnis-Methode D_{c-P} und der Integrationsmethode D_{c-I} führt zu einer marginalen Reduzierung der geordneten Bereiche. Sie nimmt von 91 % auf 88 % bzw. von 71 % auf 69 % ab. Die in Tabelle 12 enthaltenen Werte konnten für alle Bereiche des Vlieses bestimmt werden. Im Vergleich zu BNC vom GX-Stamm GX1 ($D_{c-P} = 92 \pm 1 \%$ und $D_{c-I} = 73 \pm 1 \%$), welcher im HSM kultiviert wurde, ist die Kristallinität bei T00 nahezu identisch.

Schicht	Eigenschaft	T05	T10	T20
Oberseite	$d_{NPs-MAX}$ [µm]	0,373	0,451	0,460
	$A_{NPs-\%}$ [%]	$2,7 \pm 0,2$	$6,0 \pm 0,8$	$6,3 \pm 0,9$
Mittelschicht	$d_{NPs-MAX}$ [µm]	0,081	0,278	0,156
	$A_{NPs-\%}$ [%]	$0,2 \pm 0,1$	$0,9 \pm 0,2$	$1,3 \pm 0,1$
Unterseite	$d_{NPs-MAX}$ [µm]	0,741	1,252	1,203
	$A_{NPs-\%}$ [%]	$0,5 \pm 0,4$	$5,6 \pm 0,8$	$14,1 \pm 0,2$

Tab.13: Durch das Bildbearbeitungsprogramm ImageJ bestimmter maximaler Nanopartikel-Durchmesser $d_{NPs-MAX}$ und prozentualer Flächenanteil der Nanopartikel $A_{NPs-\%}$ in allen 3 Schichten der BNC-TiO₂-Hybride T05, T10 und T20 (Abb.22 und Abb.A4, Anhang).

Die Menge der Anatas-Nanopartikel, die mit Hilfe des Bildbearbeitungsprogramms ImageJ bestimmt werden konnten (Abb.A4, Anhang), ist von der berücksichtigten Schicht des Vlieses abhängig (Tab.13). Generell nimmt sie in allen Schichten mit steigender Nanopartikel-Konzentration im Kultivierungsmedium zu (Tab.13 und Abb.A4, Anhang). Die einzelnen Nanopartikel besitzen Durchmesser von unter 50 nm. Das entspricht Durchmessern, wie sie in der Literatur während der Herstellung mit Hilfe des LAVA-Verfahrens beschrieben wurden.^{99,100} An der Oberseite sind die Nanopartikel feinverteilt (Abb.A4a, d und g, Anhang). Die maximal bestimmbaren Durchmesser der Nanopartikel $d_{NPs-MAX}$ oder der daraus gebildeten Agglomerate bewegen sich im Bereich von 370 nm bis 460 nm. Im Gegensatz dazu sind in der unteren Schicht der Hybride Agglomerate mit Größen bis 1,2 µm erkennbar (Tab.13, Abb.A4c, f und i, Anhang). Der prozentuale Flächenanteil der Nanopartikel ($A_{NPs-\%}$) in der unteren und der oberen

Schicht ist deutlich höher als in der Mittelschicht, in der wenige und kleine Nanopartikel vorhanden sind (Tab.13, Abb.A4b, e und h, Anhang).

4.2.2. BNC-Bildung in Gegenwart von Anatas-Nanopartikeln

Die strukturellen Veränderungen des Hybrids finden im Rahmen der Biosynthese *in situ* statt. Aus diesem Grund ist die Untersuchung des Zusammenhangs zwischen synthetisierter Struktur und Ablauf der Biosynthese von besonderem Interesse. Um den Einfluss der Anatas-Nanopartikel auf den Prozess der Biosynthese zu untersuchen, wurde der Glucose-Verbrauch im Kultivierungsmedium (Abb.24a), die Veränderung der CFU (Abb.24b) und die Trockenmasse der Hybride (Abb.25a) als Funktion der Kultivierungszeit bestimmt.

Der Verlauf des Glucose-Gehalts im modifizierten HSM bei T00 entspricht dem des unmodifizierten HSM (Abb.10a: GX1). Die Gegenwart der Nanopartikel führt ebenfalls zu keiner Veränderung dieses charakteristischen Verlaufs. Dementsprechend bleibt der initiale Glucose-Gehalt im Kultivierungsmedium von 20 g/l während der Startphase (1. und 2. Kultivierungstag) konstant (Abb.24a). Das Auftreten dieser charakteristischen Adaptionsphase von GX1 führt auch dazu, dass die CFU-Anzahl von 10^5 CFU/ml³¹ während dieses Zeitraums nahezu unverändert bleibt (Abb.24b). Dadurch ist ebenfalls erklärbar, warum die Trockenmasse innerhalb dieses Zeitraums sehr gering ist (Abb.25a). Es wird lediglich eine geringe Menge BNC von den Bakterien synthetisiert, um an die sauerstoffreiche Grenzfläche des Kultivierungsmediums zu gelangen.

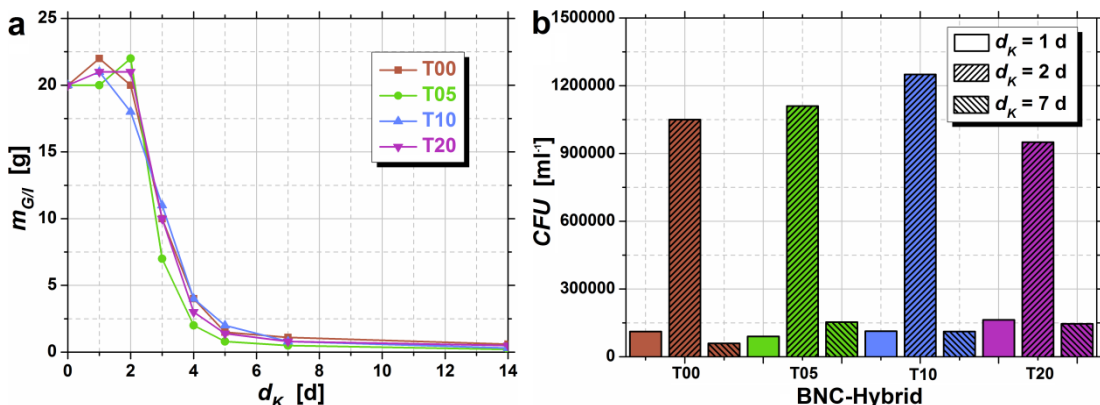


Abb.24: a) Verlauf der Glucose-Masse $m_{G/l}$, welche auf einen Liter Kultivierungsmedium bezogen ist, und b) die bestimmte Lebend-Zell-Zahl CFU während der Synthese der BNC-TiO₂-Hybride T00, T05, T10 und T20 in Abhängigkeit von der Kultivierungszeit d_K .

Nach zwei Kultivierungstagen befindet sich der Großteil der Bakterien an der Grenzfläche Kultivierungsmedium und Luft. Die Anzahl der CFU steigt von 10^5 CFU/ml auf 10^6 CFU/ml (Abb.24b). Das bedeutet, dass mehr Bakterien mehr Glucose in ihren Stoffwechsel einbeziehen können, sodass der Glucose-Gehalt im Kultivierungsmedium

deutlich abnimmt (Abb.24a).^{30,31} Dieses Verhalten ist unabhängig von der gewählten Anatas-Konzentration im Kultivierungsmedium.

Nach 5 Kultivierungstagen sind nahezu 90 % der eingesetzten Glucose verbraucht. Die Glucose-Abnahme innerhalb dieses Zeitraums ist in guter Übereinstimmung mit der Zunahme der Trockenmasse (Abb.24a und Abb.25a). Nach 7-tätiger Kultivierung verlangsamt sich die Synthese, was sich auch in einem Rückgang der CFU widerspiegelt (Abb.24b). Nach etwa 9 Kultivierungstagen ist die Synthese abgeschlossen. Die Zugabe der Anatas-Nanopartikel zum Kultivierungsmedium hat keinen Einfluss auf den Verbrauch der Glucose und dessen Verlauf. Dieser entspricht dem von BNC im unmodifizierten HSM (Abb.10a: GX1). Zudem entspricht die CFU-Anzahl im Kultivierungsmedium mit Nanopartikeln (T05, T10 und T20) der von unmodifizierter BNC (T00). Jedoch sinkt die Trockenmasse durch die Erhöhung der Anatas-Konzentration im Kultivierungsmedium leicht (Abb.25a).

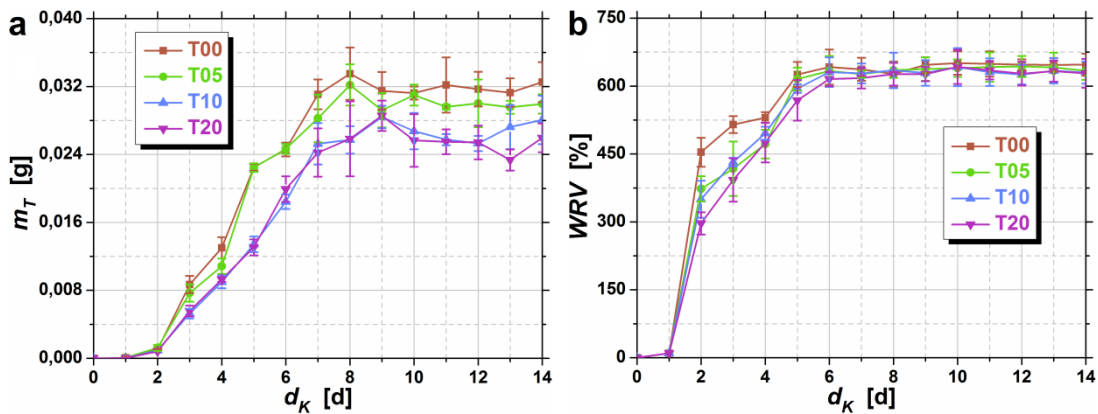


Abb.25: a) Trockenmasse m_T und b) Wasserrückhaltevermögen WRV der BNC-TiO₂-Hybride T00, T05, T10 und T20 in Abhängigkeit von der Kultivierungszeit d_K .

Dies hat zur Folge, dass die Ausbeute von unmodifizierter BNC (T00) von $Y = 33 \pm 2 \%$ auf $Y = 26 \pm 3 \%$ für den Hybrid mit höchster Anatas-Massenkonzentration (T20) sinkt (Tab.14). Im Vergleich zu BNC, welche im HSM synthetisiert wurde (GX1: $Y = 42 \%$), sinkt die Ausbeute von T00 durch die Modifizierung des Kultivierungsmediums leicht.

Probe	T00	T05	T10	T20
WAV [%]	16200 \pm 2000	18600 \pm 2600	20500 \pm 1800	22500 \pm 700
WRV [%]	647 \pm 24	634 \pm 20	629 \pm 25	628 \pm 31
Y [g/l]	6,5 \pm 0,5	6,0 \pm 0,2	5,6 \pm 0,5	5,2 \pm 0,3

Tab.14: Wasseraufnahmevermögen WAV, Wasserrückhaltevermögen WRV sowie die Ausbeute Y von den untersuchten BNC-TiO₂-Hybrid-Materialien T00, T05, T10 und T20.

Diese Beobachtung korreliert mit dem steigenden prozentualen Flächenanteil der Poren in der Mittelschicht der BNC-TiO₂-Hybride (Tab.11). Die Veränderung des Poren- und Tunnelsystems hat zur Folge, dass sich auch das WAV und das WRV ändern. Der Kurvenverlauf des WAV aller BNC-Hybride entspricht dem charakteristischen Verlauf von BNC, welche im HSM hergestellt wurde (Abb.15: GX1 und Abb.26). Es ist erkennbar, dass das WAV bei einer Kultivierungszeit von einem Tag etwa 900000 % entspricht. Das ist höher als das WAV für GX1 zu diesem Zeitpunkt (WAV = 800000 %). Außerdem geht das WAV bei GX1 innerhalb der nächsten zwei Kultivierungstage schnell auf den endgültigen Wert zurück. Für die Hybride ist diese Abnahme zeitlich verzögert. Zudem sinkt das WAV nicht bis auf die Werte von GX1. Dementsprechend ist das WAV der Hybride nach einer 14-tägigen Kultivierung im Vergleich zu GX1 leicht erhöht (Tab.14). Weiterhin ist eine tendenzielle Zunahme des WAV mit steigender Nanopartikel-Konzentration während der Synthese zu erkennen.

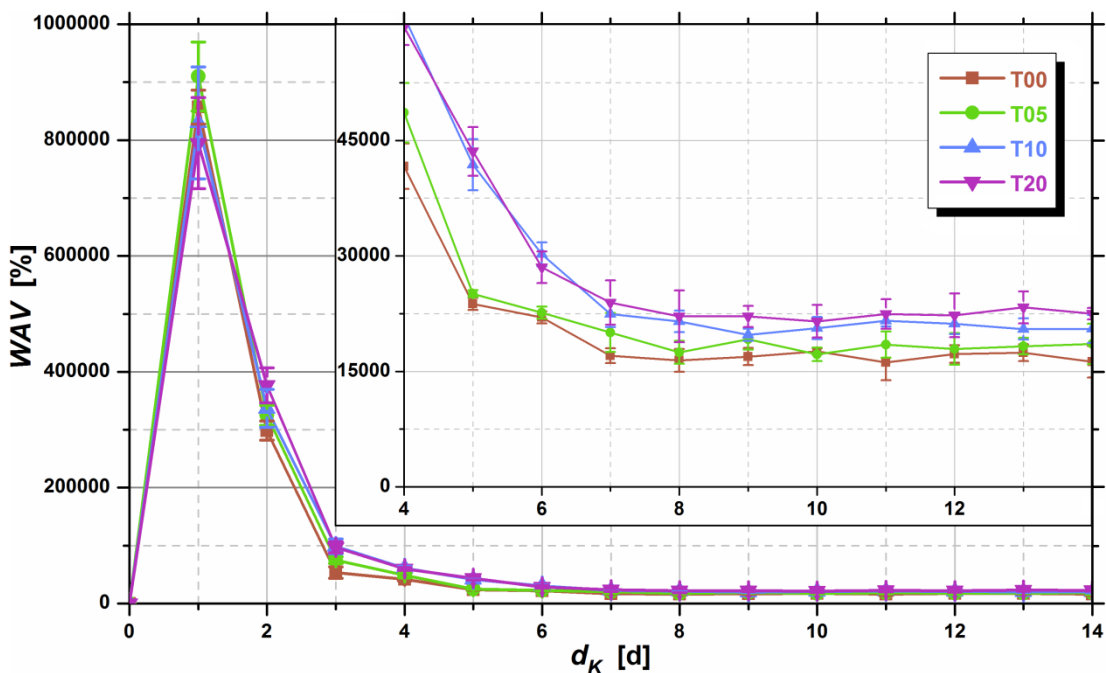


Abb.26: Wasseraufnahmevermögen WAV in Abhängigkeit von der Kultivierungszeit d_K für die BNC-TiO₂-Hybride T00, T05, T10 und T20 (Insert: vergrößerte Darstellung des WAV für die Tage 4 bis 14).

Der Verlauf des WRV zeigt (Abb.25b), dass die aufgenommene Wassermenge aufgrund der veränderten Morphologie (u.a. Faser-Aggregation und Zunahme des prozentualen Flächenanteils der Poren) weniger stark zurückgehalten werden kann (Tab.14). Das WRV sinkt leicht von 647 % bei T00 auf 628 % bei T20 (Abb.25b). Der Vergleich zwischen T00 und GX1 (WRV = 650 %) zeigt keinen Unterschied. Im zeitabhängigen Verlauf des WRV ist zu erkennen, dass es für alle BNC-Hybride bis zu fünf Kultivierungstage in Anspruch nimmt, ehe die supramolekulare Struktur das endgültige

WRV besitzt. Im Vergleich zu BNC, bei dem es bereits nach 3 Kultivierungstagen erreicht wird, ist dies deutlich länger.

4.2.3. Mechanische Eigenschaften der BNC-TiO₂-Hybride

Die veränderte molekulare und supramolekulare Struktur beeinflusst die mechanischen Eigenschaften der Hybride. Die Untersuchungen zur Zugfestigkeit zeigen, dass der typische Verlauf des Spannungs-Dehnungs-Diagramms durch die Modifizierung des Kultivierungsmediums (T00) sowie durch die Zugabe von Anatas-Nanopartikeln zum Kultivierungsmedium (T05, T10 und T20) nicht beeinflusst wird (Abb.27a). Er entspricht dem von unmodifizierter BNC, welche von GX1 im HSM hergestellt wurde (Abb.18a: GX1). Zudem korreliert der Kurvenverlauf der BNC-TiO₂-Hybride mit den Beobachtungen der Versagensmechanismen von GX1 (Abb.19).

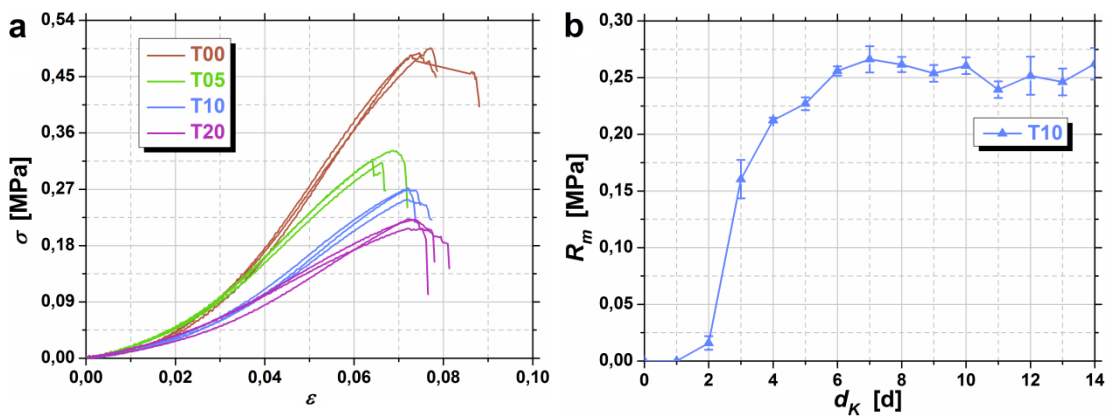


Abb.27: a) Spannungs-Dehnungs-Diagramm von den BNC-TiO₂-Hybriden T00, T05, T10 und T20 nach einer Kultivierungszeit d_K von 14 Tagen und b) bestimmte Zugfestigkeit R_m vom BNC-Hybrid T10 in Abhängigkeit von der Kultivierungszeit d_K .

Jedoch sinkt die Zugfestigkeit aller BNC-TiO₂-Hybride bei gleichzeitiger Zunahme der Bruchdehnung im Vergleich zu BNC von GX1 (Tab.8 und Tab.15). Darüber hinaus ist aus Abbildung 27a entnehmbar, dass die Zugfestigkeit mit steigender Nanopartikel-Konzentration im Kultivierungsmedium von $R_m = 0,471$ MPa (T00) auf $R_m = 0,215$ MPa für die maximale Nanopartikel-Konzentration (T20) sinkt (Tab.15).

Probe	T00	T05	T10	T20
R_m [MPa]	$0,471 \pm 0,023$	$0,303 \pm 0,020$	$0,262 \pm 0,015$	$0,215 \pm 0,010$
ϵ_m	$0,074 \pm 0,002$	$0,065 \pm 0,004$	$0,072 \pm 0,003$	$0,071 \pm 0,004$

Tab.15: Aus dem Zugversuch ermittelte Zugfestigkeit R_m und die zugehörige Dehnung bei R_m (ϵ_m) nach einer Kultivierungszeit d_K von 14 Tagen von BNC-TiO₂-Hybriden T00, T05, T10 und T20.

Die Einbeziehung der kultivierungszeitabhängigen Zugfestigkeitswerte zeigt, dass der Verlauf des BNC-TiO₂-Hybrids T10 mit dem charakteristischen Verlauf von unmodifizierter BNC übereinstimmt (Abb.18b und Abb.27b). Die endgültige Festigkeit wird jedoch erst nach 6 Kultivierungstagen erreicht. Im Vergleich zu GX1 entspricht dies einer zeitlichen Verzögerung von etwa 2 Tagen.

Im Rahmen der Untersuchungen zum Kompressionsverhalten der BNC-TiO₂-Hybride konnte festgestellt werden, dass kein Versagen während der Versuchsdurchführung auftrat. Das Wasser wurde herausgepresst. Dieser Prozess läuft auf gleiche Weise ab, wie er für BNC von GX1 gefunden wurde (Abb.21).

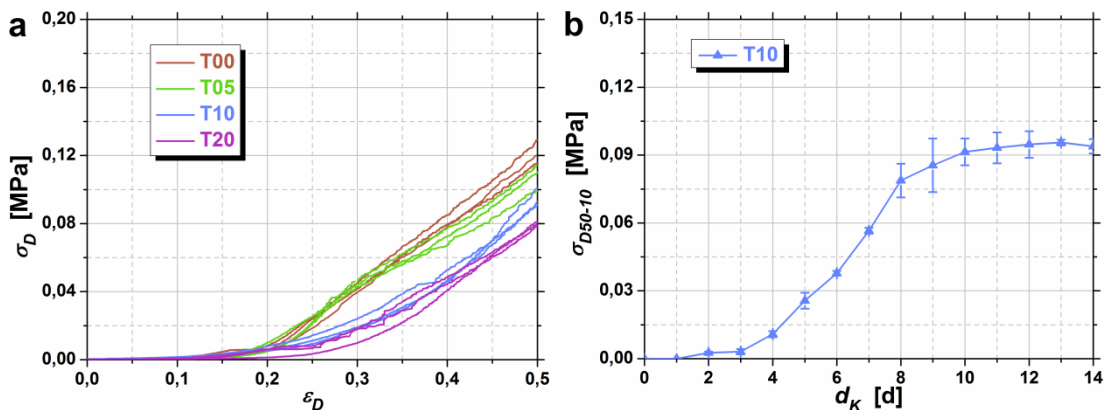


Abb.28: a) Druckspannungs-Stauchungs-Diagramm von den BNC-TiO₂-Hybriden T00, T05, T10 und T20 nach einer Kultivierungszeit d_K von 14 Tagen sowie b) Druckspannung bei 50 % Stauchung und einer Kompressionsgeschwindigkeit v_{druck} von 10 mm/min (σ_{D50-10}) vom BNC-TiO₂-Hybrid T10 in Abhängigkeit von der Kultivierungszeit d_K .

Die veränderte Tunnel- und Porenstruktur führt jedoch dazu, dass die Kompression bei geringeren Druckspannungen möglich ist (Abb.28a). Sowohl eine Modifizierung des Kultivierungsmediums als auch eine zusätzliche Verwendung von Nanopartikeln im Kultivierungsmedium führen dazu, dass die bestimmten Spannungswerte bei 50 % Stauchung geringer als bei BNC von GX1 sind (Tab.10 und Tab.16). Zudem ist eine Abhängigkeit von der im Kultivierungsmedium enthaltenen Anatas-Menge zu beobachten (Abb.28a). Durch die Erhöhung der Nanopartikel-Konzentration im Kultivierungsmedium sinkt die Druckspannung bei 50 % Stauchung (Tab.16).

Die bei der Kompression der BNC-Hybride auftretenden Druckspannungen sind von der gewählten Kompressionsgeschwindigkeit abhängig (Tab.16 und Abb.A14, Anhang). Die Druckspannung bei 50 % Stauchung steigt für alle Hybride mit steigender Kompressionsgeschwindigkeit an. Außerdem bestätigen die Ergebnisse den gefundenen Einfluss der verwendeten Nanopartikel-Konzentration auf die aufgebaute Druckspannung. Das Verhalten der BNC-TiO₂-Hybride in Abhängigkeit von der Kompressionsgeschwindigkeit entspricht dem von BNC, welche unter Standardbedingungen von GX1 synthetisiert wurde (Tab.10 und Abb.A13b, Anhang).

Bei der Betrachtung des Kompressionsverhaltens in Abhängigkeit von der Kultivierungszeit fällt auf (Abb.28b), dass die Spannung bei 50 %iger Stauchung innerhalb der ersten drei Kultivierungstage sehr gering ist. Anschließend findet eine schnelle Zunahme bis zum 9. Kultivierungstag statt ($\sigma_{D50-10} = 0,086$ MPa). Ab dem 10. Kultivierungstag schwanken die Spannungswerte nur noch um den Mittelwert von $\sigma_{D50-10} = 0,095$ MPa, der nach 14-tätiger Kultivierungszeit erhalten wurde. Im Vergleich zu BNC von GX1, bei dem der endgültige Spannungswert nach etwa 8 Kultivierungstagen erreicht wurde (Abb.20b), sind die erhaltenen Ergebnisse vom BNC-TiO₂-Hybrid T10 zeitlich etwas verzögert.

Probe	T00	T05	T10	T20
σ_{D50-10} [MPa]	0,122 ± 0,007	0,108 ± 0,007	0,095 ± 0,005	0,080 ± 0,001
σ_{D50-05} [MPa]	0,045 ± 0,001	0,041 ± 0,003	0,035 ± 0,003	0,031 ± 0,001
σ_{D50-01} [MPa]	0,014 ± 0,001	0,013 ± 0,001	0,012 ± 0,001	0,011 ± 0,006

Tab.16: Aus den Kompressionsuntersuchungen ermittelte Druckspannung bei 50 % Stauchung und einer Kompressionsgeschwindigkeit v_{druck} von 10 mm/min (σ_{D50-10}), 5 mm/min (σ_{D50-05}) und 1 mm/min (σ_{D50-01}) von den untersuchten BNC-TiO₂-Hybriden T00, T05, T10 und T20.

4.2.4. Photokatalytische Aktivität der Hybride

Die vom Hybrid generierten Hydroxyl-Radikale wurden durch den MK-Test bestimmt. Aus Abbildung 29a geht hervor, dass T00 eine gewisse Grundaktivität von $c_{OH^\bullet} = 0,013$ mmol/l aufweist. Diese entspricht einem Blindwert.¹²³ Durch die Integration von Anatas-Nanopartikeln in den Hybrid steigt die Radikal-Konzentration bis auf $c_{OH^\bullet} = 0,049$ mmol/l für T10 (Abb.29a und Tab.17). Eine weitere Erhöhung der Konzentration der Nanopartikel im Kultivierungsmedium (T20) führt zu keiner weiteren Zunahme der PKA.

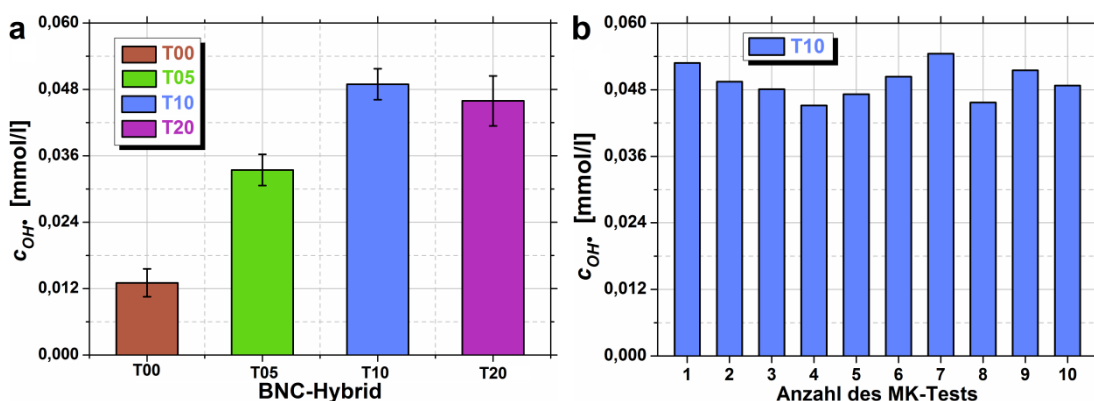


Abb.29: a) Durch den MK-Test bestimmte Hydroxyl-Radikal-Konzentration c_{OH^\bullet} von den BNC-TiO₂-Hybriden T00, T05, T10 und T20 und b) die Hydroxyl-Radikal-Konzentration c_{OH^\bullet} von der Probe T10 bei 10-facher Wiederholung des MK-Tests in jeweils erneuerter 1 Vol% Methanol-Lösung.

Die Stabilität des Photokatalysators wurde durch die mehrfache Wiederholung des MK-Tests evaluiert. Dazu wurde die Probe mit der höchsten PKA (T10) zehnmal hintereinander untersucht, wobei nach jeder Messung die Methanol-Test-Lösung erneuert wurde (Abb.29b). Die Ergebnisse sind durch eine marginale Schwankung der Hydroxyl-Konzentration um eine mittlere Hydroxyl-Radikal-Konzentration von $c_{OH^\bullet} = 0,049 \pm 0,005$ mmol/l charakterisiert. Dies verdeutlicht, dass kein Verbrauch oder Abbau während der durchgeführten Messungen beobachtbar ist. Weiterhin deutet es an, dass die Nanopartikel immobilisiert im Netzwerk vorliegen.

Probe	T00	T05	T10	T20
$A_{\lambda t}/A_{\lambda 0}$	$0,975 \pm 0,013$	$0,915 \pm 0,001$	$0,722 \pm 0,002$	$0,733 \pm 0,005$
c_{OH^\bullet} [mmol/l]	$0,0131 \pm 0,0025$	$0,0334 \pm 0,0028$	$0,0489 \pm 0,0028$	$0,0459 \pm 0,0045$

Tab.17: Prozentualer Abbau von MB $A_{\lambda t}/A_{\lambda 0}$ nach einer MB-Test-Dauer von $t = 9000$ s und die Hydroxyl-Radikal-Konzentration c_{OH^\bullet} , bestimmt während des MK-Tests, von T00, T05, T10 und T20.

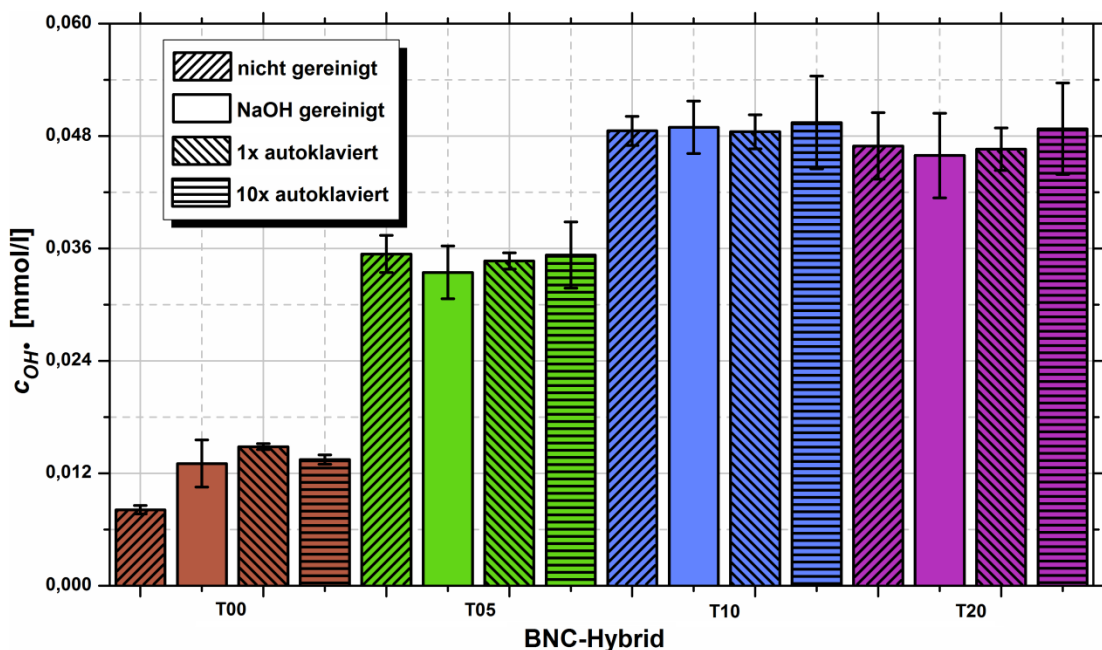


Abb.30: Einfluss von verschiedenen Reinigungsverfahren (nicht gereinigt, normal in NaOH gereinigt, einmalige Autoklavierung sowie zehnmögliche Autoklavierung) auf die im MK-Test bestimmte Hydroxyl-Radikal-Konzentration c_{OH^\bullet} von den BNC-TiO₂-Hybriden T00, T05, T10 und T20.

Zur genaueren Untersuchung der Nanopartikel-Immobilisierung wurden zusätzlich Proben verwendet, die nach der Synthese auf verschiedene Weisen gereinigt wurden (Abb.30). Neben dem standardisierten Reinigungsverfahren in NaOH, wurden die Proben ungereinigt (nicht gereinigt), nach einmaliger (1x) und nach zehnmöglicher Autoklavierung (10x) untersucht, wobei bei letzterer Methode das destillierte Wasser nach jedem Autoklavierungsschritt gewechselt wurde. Die Ergebnisse zeigen, dass die

PKA unabhängig von der Reinigungsmethode ist. Der gefundene Einfluss der Anatas-Konzentration auf die bestimmte Hydroxyl-Radikal-Konzentration ist bei allen Reinigungsverfahren vorhanden. Der Blindwert von T00 ist stets existent.

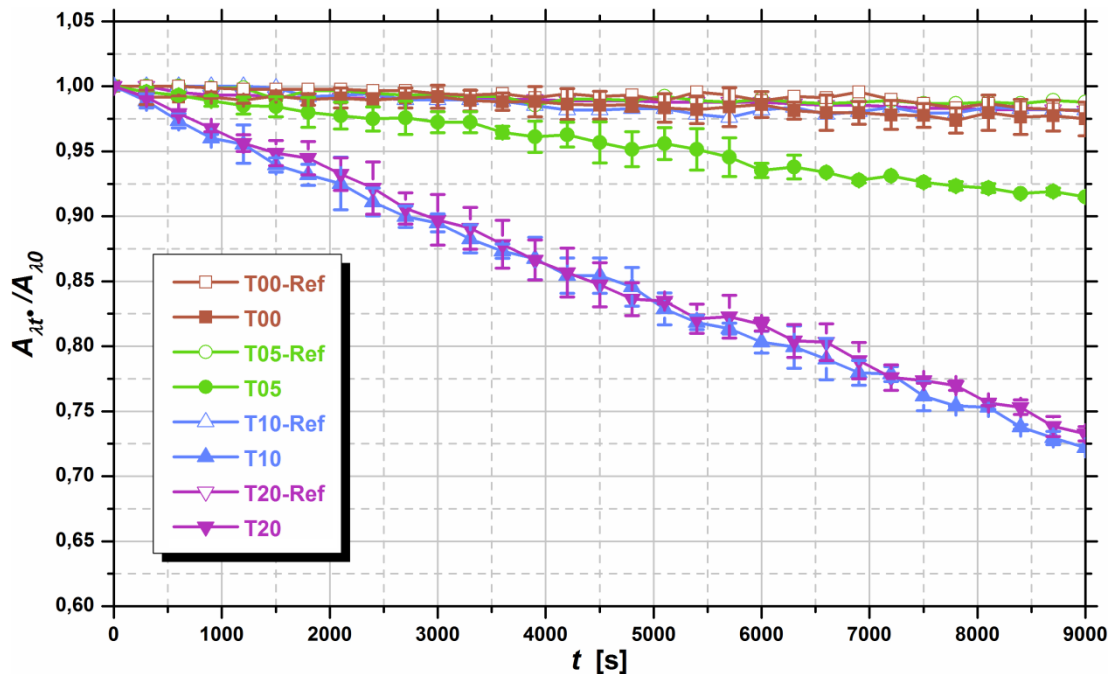


Abb.31: Zeitliche Veränderung der Absorbanz der Prüflösung $A_{\lambda t^*}/A_{\lambda 0}$ während des Abbaus von MB durch die Hybride mit (T00, T05, T10 und T20) und ohne (T00-Ref, T05-Ref, T10-Ref und T20-Ref) Bestrahlung durch Licht mit einer Wellenlänge von $\lambda = 365 \text{ nm}$.

Als zweites Verfahren zur Verifizierung der PKA wurde der Abbau von MB genutzt (Abb.31). Der Verlauf aller Hybride entspricht einer Geraden. Innerhalb der Versuchsdauer war keine Entfärbung der Prüflösung beobachtbar, welche sich in einem asymptotischer Sättigung bemerkbar gemacht hätte.

Im Gegensatz zum MK-Test zeigt T00 keine Fähigkeit MB umzuwandeln und somit keinen Blindwert. Das Verhalten von T00 entspricht dem der Referenzproben (Abb.31: Ref-Proben), die das Nichtvorhandensein einer PKA aller Proben bei der Durchführung in Abwesenheit einer Bestrahlungsquelle nachweisen. Es ist lediglich ein marginaler Abfall über den Prüfzeitraum detektierbar (1 % bis 2 %). Dieser ist vernachlässigbar und wird auch in der Literatur beschrieben.^{120,136}

Die Umwandlungsmenge von MB hängt von der Bestrahlungsdauer ab. Je länger die Hybride, die Anatas-Nanopartikel enthalten (T05, T10 und T20), bestrahlt werden, desto mehr gebildete Radikale können mit MB reagieren. Darüber hinaus hängt die PKA von der Anatas-Konzentration ab. Mit steigender Massenkonzentration steigt diese von T05 zu T10 stark an. Eine weitere Konzentrationserhöhung führt zu keiner weiteren Zunahme. Aus diesem Grund besitzen die BNC-TiO₂-Hybride T10 und T20 eine vergleichbare PKA.

4.3. Antimikrobielle Aktivierung von BNC mittels *post*-Modifizierung

4.3.1. Nachweis der Modifizierungsschritte

Die Ag-BNC-Hybride wurden durch eine schrittweise chemische *post*-Modifizierung von BNC (GX1) hergestellt. Die verschiedenen Behandlungsschritte sind mit Hilfe der zugehörigen FT-IR-Spektren nachvollziehbar (Abb.32). Die charakteristischen Banden für BNC können bei Wellenzahlen von 3347 cm^{-1} (O-H-Streckschwingung), 3240 cm^{-1} (O-H-Streckschwingung), 2896 cm^{-1} (C-H-Streckschwingung der Methylengruppe), 1428 cm^{-1} (Deformationsschwingung der Methylengruppe), 1163 cm^{-1} (C1-O-C4-Streckschwingung der glykosidischen Bindung), 1109 cm^{-1} (C2-O2-Streckschwingung), 1058 cm^{-1} (C3-O3-Streckschwingung) und 1034 cm^{-1} (C6-O6-Streckschwingung) nachgewiesen werden (Abb.32: GX1).^{16,30,55,60,137}

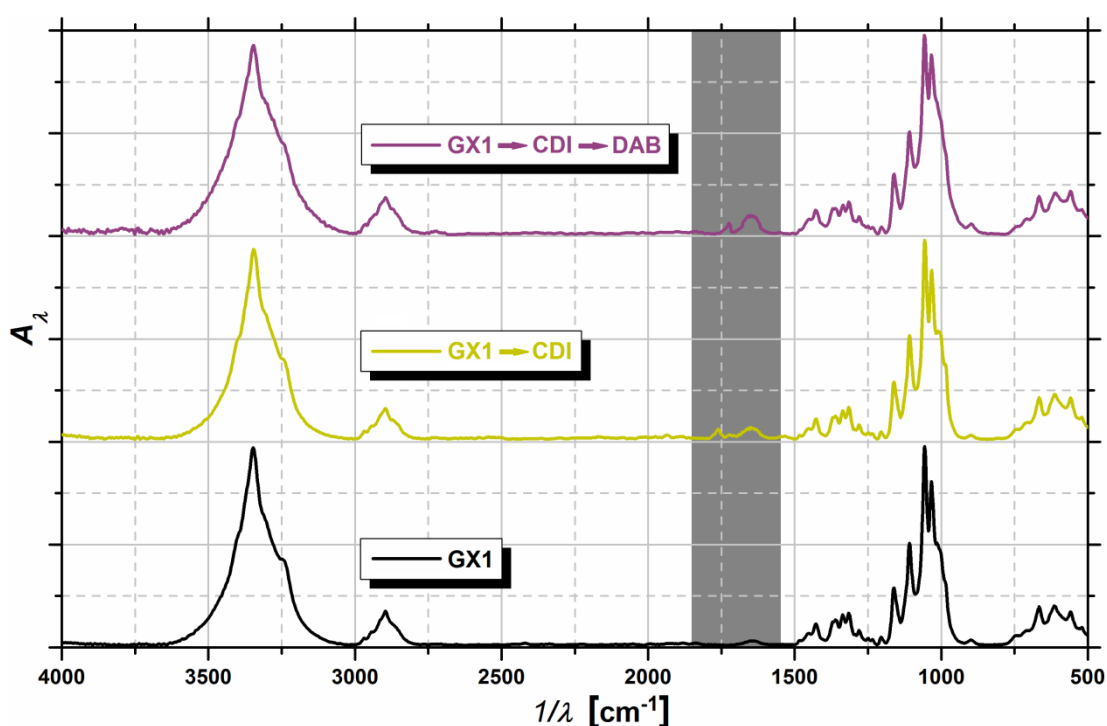


Abb.32: FT-IR-Spektren von BNC vor der Modifizierung (GX1), nach der Aktivierung mit CDI (GX1→CDI) und nach anschließender Modifizierung mit DAB (GX1→CDI→DAB) während der *post*-Modifizierung (dunkelgrau hinterlegter Wellenzahlbereich enthält modifizierungsrelevante Schwingungsbanden).

Die Reaktion von CDI mit den Hydroxy-Gruppen der Cellulose (Aktivierung) führt zur Bildung von Imidazol-Ester-Derivaten (Abb.33: I).^{96,137,138} Dennoch bleibt die spektrale Signatur von BNC unverändert, was die Stabilität von BNC während des Prozesses zeigt. Zusätzlich erscheinen zwei Banden bei $1/\lambda = 1760\text{ cm}^{-1}$ und $1/\lambda = 1650\text{ cm}^{-1}$ (Abb.32: GX1→CDI). Sie gehören zur C=O-Streckschwingung des Imidazol-Esters

($1/\lambda = 1760\text{ cm}^{-1}$) bzw. zu den C=C- und C=N-Streckschwingungen der Imizadol-Heterocyclen ($1/\lambda = 1650\text{ cm}^{-1}$).^{96,137,139}

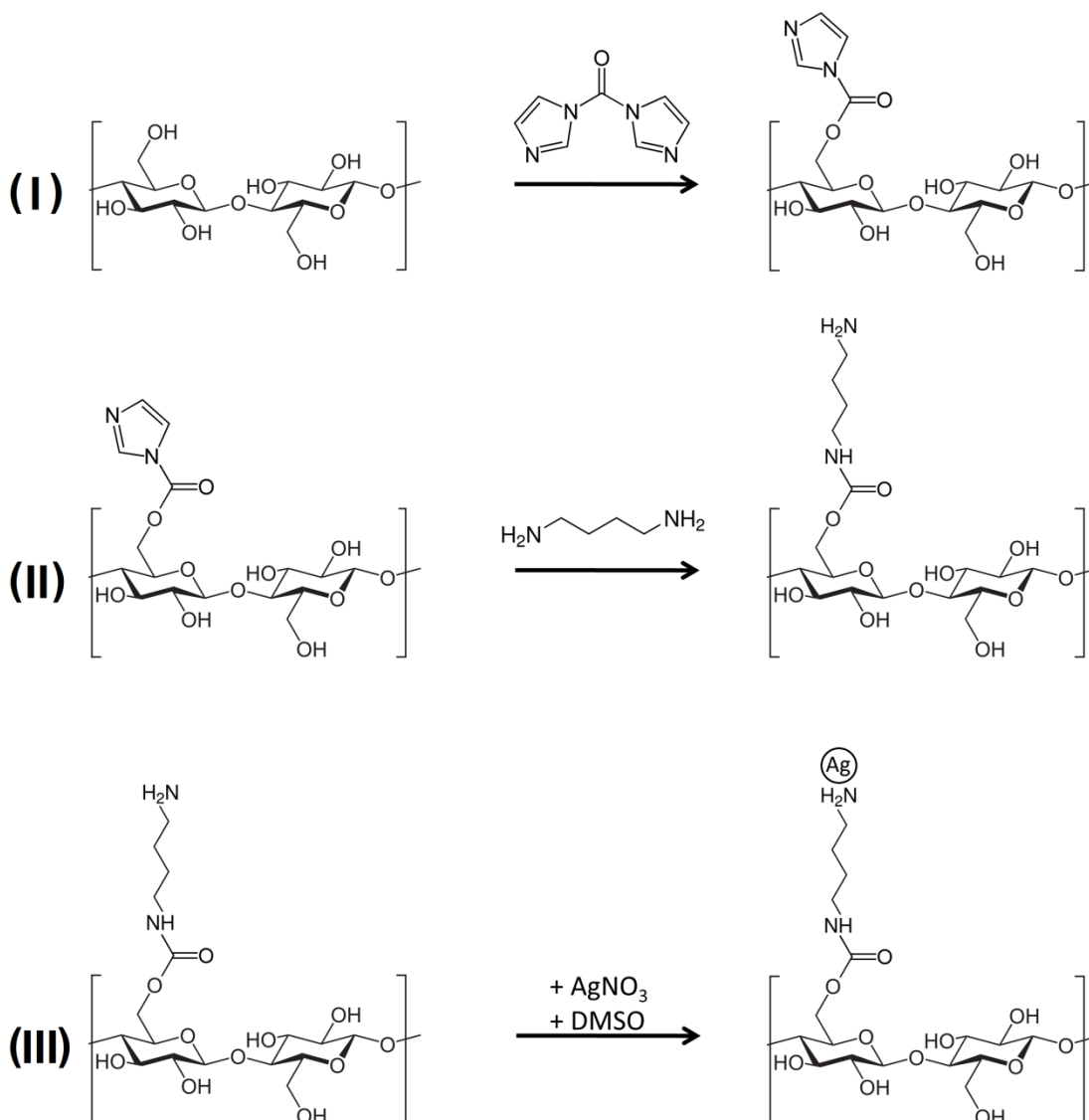


Abb.33: Schematische Reaktionsschritte zur (I) Aktivierung von BNC durch die Bildung von Imidazol-Ester-Derivaten (GX1→CDI), (II) Funktionalisierung durch DAB (GX1→CDI→DAB) und (III) selektiven Reduktion von Silber-Nanopartikeln an der modifizierten BNC.^{96,139}

Darüber hinaus zeigen die Ergebnisse der Elementaranalysen, dass der Stickstoffgehalt von BNC, bei der Stickstoff lediglich in Spuren nachgewiesen werden kann,^{30,140} durch den Modifizierungsschritt steigt (Tab.18).

Während des zweiten Behandlungsschrittes koppeln (chemisorbieren) die Amine durch Carbamatbindungen an die gebildeten Imidazol-Ester-Derivate an (Abb.33: II).^{96,137} Dementsprechend nehmen die Intensitäten der beiden Banden bei $1/\lambda = 1760\text{ cm}^{-1}$ und $1/\lambda = 1650\text{ cm}^{-1}$ ab. Gleichzeitig werden zwei Banden bei $1/\lambda = 1650\text{ cm}^{-1}$ (asymmetrische Streckschwingung von NH) und bei $1/\lambda = 1730\text{ cm}^{-1}$ (C=O-Streckschwingung des Carbamats) sichtbar (Abb.32: GX1→CDI→DAB).⁹⁶ In

Verbindung mit den bestimmten Stickstoffgehalten der Proben bestätigen die beiden Banden das Auftreten der Kondensationsreaktion zwischen dem Imizadol-Ester und der Amino-Gruppe (Tab.18).¹³⁷

Probe	Kohlenstoff [%]	Wasserstoff [%]	Stickstoff [%]
GX1	43,47 ± 0,07	6,32 ± 0,05	0,10 ± 0,10
GX1→CDI	42,64 ± 0,02	6,21 ± 0,01	0,40 ± 0,02
GX1→CDI→DAB	42,83 ± 0,07	6,32 ± 0,07	0,29 ± 0,03

Tab.18: Aus den Elementaranalysen bestimmter prozentualer Anteil an Kohlenstoff, Wasserstoff und Stickstoff von BNC vor der Modifizierung (GX1), nach der Aktivierung mit CDI (GX1→CDI) und nach anschließender Modifizierung mit DAB (GX1→CDI→DAB) während der *post*-Modifizierung.

Die Nukleation des Silbers wird durch Silber-Ionen induziert, welche sich an die zur Verfügung stehenden terminalen Amino-Gruppen der vorbehandelten BNC koordinativ koppeln (Abb.33: III).^{96,137,138} Dadurch wird das Redox-Potential der Ag-Reduktion verkleinert, sodass das Reduktionsmittel DMSO bei Raumtemperatur Silber-Ionen zu Ag^0 reduziert.^{96,141} Dementsprechend erfolgt die Keimbildung und das Keimwachstum selektiv an der Amino-Gruppe,¹³⁸ deren Reaktivität im Vergleich zum Imizadol-Ester bzw. zur Hydroxy-Gruppe erhöht ist.¹³⁹

4.3.2. Einfluss unterschiedlicher AgNO_3 -Konzentrationen

Die Ag-BNC-Hybride zeigen nach der Behandlung eine Graufärbung. Durch die REM-Aufnahmen kann die Existenz von Nanopartikeln auf deren Oberseite (Abb.34c, e, g und i sowie Abb.A8a, c, e und g, Anhang) und deren Unterseite (Abb.34d, f, h und j sowie Abb.A8b, d, f und h, Anhang) nachgewiesen werden. Durch die Ermittlung von silberspezifischen Röntgenquanten während der EDX-Analysen ($E_{L\alpha 1} = 2,984 \text{ keV}$ und $E_{L\beta 1} = 3,151 \text{ keV}$) können diese als Ag-Nanopartikel identifiziert werden (Tab.A3 und Abb.A10, Anhang).^{35,47}

Probe	GX1	Ag2.5	Ag5	Ag10	Ag20
D_{c-P} [%]	92 ± 1	92 ± 1	92 ± 1	91 ± 1	92 ± 1
D_{c-I} [%]	73 ± 1	72 ± 2	73 ± 1	72 ± 1	71 ± 2

Tab.19: Die nach der Peak-Intensitäts-Verhältnis-Methode D_{c-P} und nach der Integrationsmethode D_{c-I} bestimmte Kristallinität von BNC des GX-Stamms GX1 und von den modifizierten BNC-Hybriden Ag2.5, Ag5, Ag10 und Ag20.

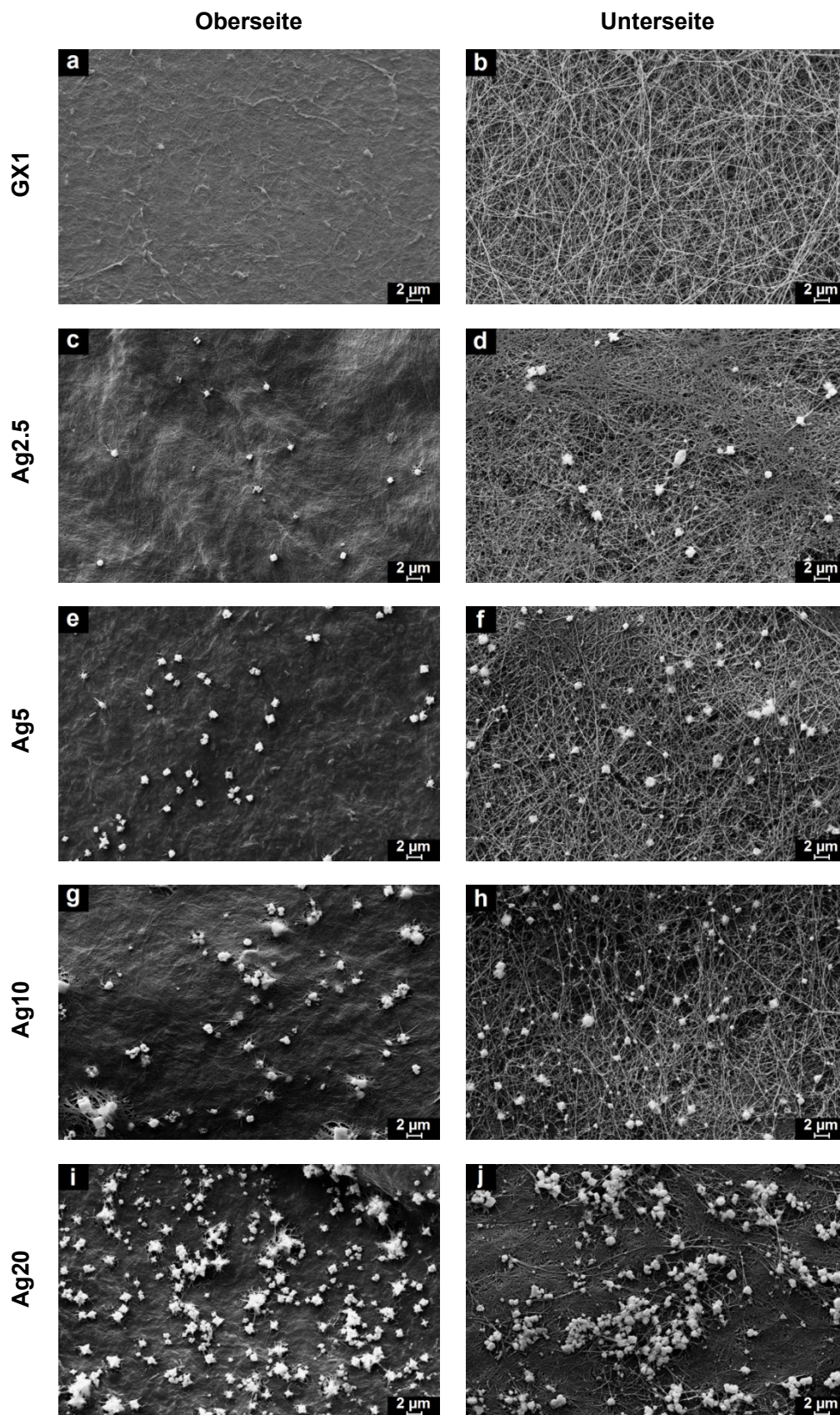


Abb.34: REM-Aufnahmen der Oberseite (a, c, e, g und i) und der Unterseite (b, d, f, h und j) von GX1 (a und b) sowie von den gefriergetrockneten Ag-modifizierten BNC-Hybriden Ag2.5 (c und d), Ag5 (e und f), Ag10 (g und h) und Ag20 (i und j) bei 1000-facher Vergrößerung.

Die Einbeziehung der röntgendiffraktometrischen Untersuchungen bestätigt die Existenz von Silber durch die typischen Reflexe von metallischen Silber bei $2\Theta = 38,2^\circ$ (111) und $2\Theta = 44,5^\circ$ (200) (Abb.35 und Abb.A20, Anhang).^{35,50,56,95} Zusätzlich kann auch eine Intensitätszunahme der Reflexe in Abhängigkeit von der verwendeten AgNO_3 -Konzentration in der oberen und unteren Schicht bestimmt werden.

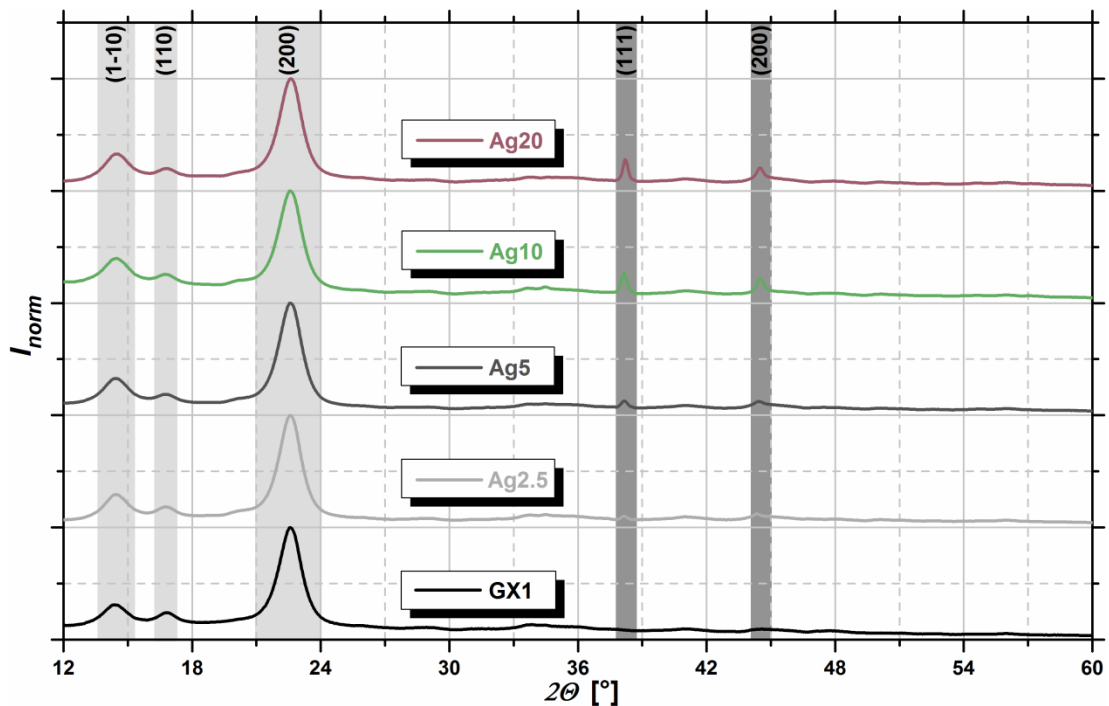


Abb.35: Röntgenbeugungs-Diffraktogramme der oberen Schicht von den gefriergetrockneten Ag-BNC-Hybriden Ag2.5, Ag5, Ag10 und Ag20 sowie von BNC des Bakterienstamms GX1 (die Bereiche von den Reflexen der Cellulose-Modifikation / sind hellgrau und die des Silbers sind dunkelgrau hinterlegt).

Jedoch können im Rahmen der REM-Untersuchungen und der XRD-Messungen keine Ag-Nanopartikel in der Mittelschicht aller Ag-BNC-Hybride nachgewiesen werden. Eine Modifizierung der mittleren Schicht erfolgte nicht (Abb.A6, Anhang). Aus diesem Grund wird auch ersichtlich, dass das Poren- und Tunnelsystem der Ag-BNC-Hybride trotz chemischer Behandlungen dem von unmodifizierter BNC entspricht (Tab.5: GX1 und Tab.A2, Anhang). Der prozentuale Anteil der Poren in der mittleren Schicht der Hybride beträgt etwa 50 % und der durchschnittliche BNC-Faserdurchmesser bewegt sich im Bereich von 56 - 62 nm. Zudem stimmen auch die durchschnittlichen Porengrößen von 2,4 μm als auch die maximalen beobachteten Porengröße von 7,44 μm überein.

Ebenso zeigen die Ergebnisse im Rahmen der XRD-Untersuchungen (Abb.35 und Abb.A20, Anhang), dass die berechneten Kristallinitätsgrade der Ausgangsproben durch eine nachträgliche chemische Behandlung nahezu unverändert bei $D_{c-I} = 73 \%$ bzw. $D_{c-P} = 92 \%$ bleiben (Tab.19). Die molekulare und supramolekulare Gleichheit zu

unmodifizierter BNC (GX1) hat zur Folge, dass auch das WAV und das WRV unverändert bleiben (Tab.20).

Probe	GX1	Ag2.5	Ag5	Ag10	Ag20
WAV [%]	10400 ± 400	10600 ± 200	10500 ± 400	10900 ± 500	10400 ± 400
WRV [%]	650 ± 29	620 ± 23	627 ± 14	617 ± 14	622 ± 17

Tab.20: Wasseraufnahmevermögen WAV und Wasserrückhaltevermögen WRV von BNC des Bakterienstamms GX1 und den daraus modifizierten Ag-BNC-Hybriden Ag2.5, Ag5, Ag10 und Ag20.

Zusätzlich verdeutlichen die REM-Aufnahmen, dass der prozentuale Anteil der Ag-Nanopartikel an den Oberflächen durch die Erhöhung der AgNO₃-Konzentration im Rahmen des letzten Modifizierungsschrittes zunimmt (Abb.34 und Abb.A8, Anhang). Bei niedrigster Konzentration (Ag2.5) besitzen die Ag-Nanopartikel einen Flächenanteil von 0,8 % an der Oberseite (Abb.34c und Abb.A8a, Anhang) und von 1,3 % an der Unterseite (Abb.34d und Abb.A8b, Anhang). Durch eine Konzentrationserhöhung der AgNO₃-Lösung nehmen die Flächenanteile an den Ober- und Unterseiten stetig bis auf 12,2 % bzw. 12,3 % für Ag20 zu (Tab.21, Abb.34i-j und Abb.A8g-h, Anhang).

Schicht	Eigenschaft	Ag2.5	Ag5	Ag10	Ag20
Oberseite	$d_{NPS-MAX}$ [µm]	1,190	1,800	3,630	4,660
	$A_{NPS-\%}$ [%]	0,8 ± 0,1	2,1 ± 0,2	4,9 ± 0,1	12,2 ± 1,1
Unterseite	$d_{NPS-MAX}$ [µm]	3,000	3,760	2,270	4,070
	$A_{NPS-\%}$ [%]	1,3 ± 0,4	2,9 ± 0,1	6,3 ± 0,1	12,3 ± 0,1

Tab.21: Durch das Bildbearbeitungsprogramm ImageJ bestimmter maximaler Nanopartikel-Durchmesser $d_{NPS-MAX}$ und prozentualer Flächenanteil der Nanopartikel $A_{NPS-\%}$ von den Ober- und Unterseiten der Ag-BNC-Hybride Ag2.5, Ag5, Ag10 und Ag20 (Abb.A8, Anhang).

Die Größe der einzelnen erkennbaren Ag-Nanopartikel wurde unabhängig von der verwendeten AgNO₃-Konzentration mit 50 nm bestimmt (Abb.A5, Anhang). Diese ist für alle Ober- und Unterseiten gleich. Des Weiteren ist auffällig, dass mit steigender AgNO₃-Konzentration die Tendenz zum Auftreten von Partikel-Agglomeraten verstärkt wird (Abb.34 und Abb.A8, Anhang). Die Agglomerate treten durch das Wachstum einzelner Ag-Nanopartikel auf. Bei der Probe Ag20 ist die Ausbildung der Nanopartikel-Agglomerate besonders gut erkennbar (Abb.A8g-h, Anhang). Dort sind die größten Agglomerate mit einem maximalen Durchmesser von 4,1 µm an der Unterseite bzw. 4,7 µm an der Oberseite nachweisbar (Tab.21). Die Proben Ag2.5 und Ag5 besitzen im Vergleich zu den Hybriden, welche bei höheren Silbernitrat-Konzentrationen hergestellt

wurden, kleine und homogen verteilte Ag-Nanopartikel (Abb.34c-f und Abb.A8a-d, Anhang). Demzufolge sind lediglich Agglomerat-Größen von 1,2 µm bis 3,7 µm auffindbar (Tab.21).

4.3.3. Einfluss der Reaktionszeit in AgNO₃

Um den Einfluss unterschiedlicher Reaktionszeiten in der AgNO₃-Lösung auf die Ausbildung der Ag-Nanopartikel zu untersuchen, wird BNC herangezogen, welche mit einer AgNO₃-Konzentration von $c_{\text{AgNO}_3} = 5,0 \cdot 10^{-3}$ mol/l modifiziert wurde (Ag5). Diese Probe zeigt eine homogene Nanopartikel-Verteilung und kaum Agglomerate. Für die Untersuchungen werden, abweichend von der in der Literatur beschriebenen Reaktionszeit von einer Stunde (Ag5, entspricht Ag5-1h), noch Reaktionszeiten von 2 Stunden (Ag5-2h) und 3 Stunden (Ag5-3h) berücksichtigt.

Schicht	Eigenschaft	Ag5-1h	Ag5-2h	Ag5-3h
Oberseite	$d_{\text{NPs-MAX}}$ [µm]	1,800	8,230	11,990
	$A_{\text{NPs-\%}}$ [%]	$2,1 \pm 0,2$	$12,8 \pm 2,7$	$18,4 \pm 1,9$
Unterseite	$d_{\text{NPs-MAX}}$ [µm]	3,760	7,920	9,020
	$A_{\text{NPs-\%}}$ [%]	$2,9 \pm 0,1$	$13,8 \pm 3,1$	$21,4 \pm 1,8$

Tab.22: Durch das Bildbearbeitungsprogramm ImageJ bestimmter maximaler Nanopartikel-Durchmesser $d_{\text{NPs-MAX}}$ und prozentualer Flächenanteil der Nanopartikel $A_{\text{NPs-\%}}$ von den Ober- und Unterseiten der Ag-BNC-Hybride Ag5-1h, Ag5-2h und Ag5-3h (Abb.A9, Anhang).

Durch die verlängerte Behandlung ist eine Zunahme der Graufärbung beobachtbar (Abb.A21a, Anhang). Darüber hinaus nimmt der Ag-Nanopartikel-Gehalt in den oberen (Abb.36a, c und e) und unteren Schichten (Abb.36b, d und f) mit steigender Reaktionszeit deutlich zu. Er steigt von 2 % von Ag5-1h bis auf 20 % für die Probe Ag5-3h (Tab.22). Der Flächenanteil an der Ober- und Unterseite ist vergleichbar hoch. Aber auch hier ist die Tendenz erkennbar, dass der prozentuale Anteil der Nanopartikel in der oberen Schicht geringer ist als in der unteren Schicht. Die Verlängerung der Reaktionszeit bewirkt neben der Zunahme des flächenmäßigen Anteils der Ag-Nanopartikel auch die stetige Vergrößerung der Agglomerat-Größe (Tab.22 und Abb.A9, Anhang). Bis zu 12 µm große Agglomerate werden nachweisbar. Eine längere Reaktionszeit in AgNO₃ führt jedoch nicht zu einer Modifizierung in der mittleren Schicht der Ag-BNC-Hybride.

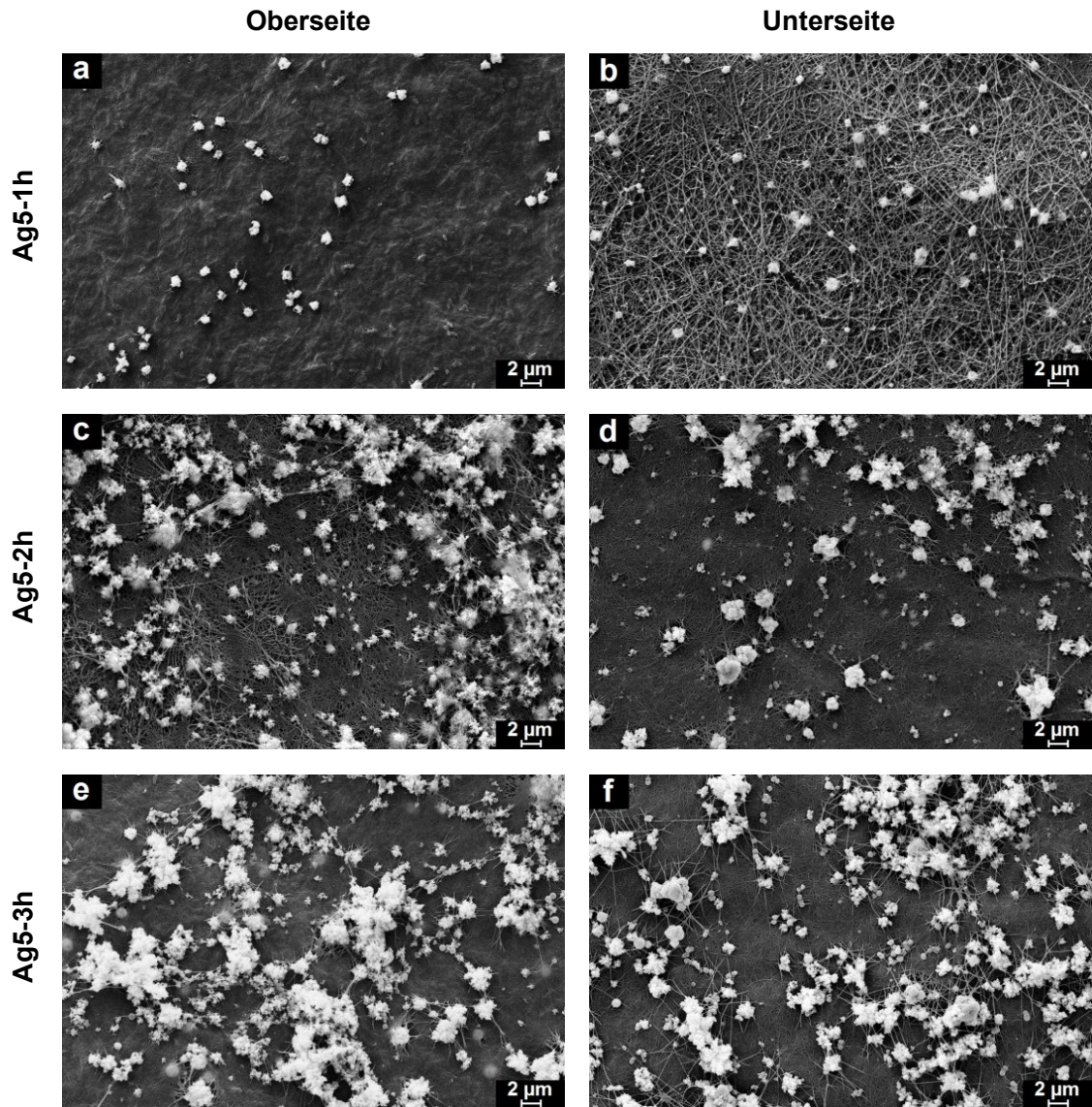


Abb.36: REM-Aufnahmen der Oberseiten (a, c, und e) und der Unterseiten (b, d, und f) vom gefriergetrockneten Ag-modifizierten BNC-Hybrid Ag5 nach einer Reaktionszeit von einer Stunde (Ag5-1h, a und b), 2 Stunden (Ag5-2h, c und d) und 3 Stunden (Ag5-3h, e und f) in AgNO_3 -Lösung bei 1000-facher Vergrößerung.

4.3.4. Mechanische Eigenschaften der Ag-BNC-Hybride

Aus dem Spannungs-Dehnungs-Diagramm sind die Kurvenverläufe aller Ag-BNC-Hybride entnehmbar (Abb.37a). Sie weisen einen nahezu identischen Kurvenverlauf auf. Generell entspricht dieser dem von BNC des GX-Stamms GX1, aus denen die Hybride hergestellt wurden (Abb.18a). Zudem sind die Hybride durch den gleichen Versagensmechanismus charakterisiert, wie er bei BNC von GX1 bereits gefunden wurde (Abb.19). Eine chemische Nachbehandlung verändert diesen nicht.

Im Gegensatz zu BNC von GX1 sinkt die bestimmte Zugfestigkeit aller Ag-BNC-Hybride leicht (Tab.8). Diese bewegt sich im Spannungsbereich von 0,385 MPa bis 0,405 MPa bei einer gleichzeitigen Bruchdehnung von 5,6 % bis 5,9 % (Tab.23). Die Ergebnisse

zeigen, dass die Zugfestigkeit unabhängig von der verwendeten Silbernitrat-Konzentration während des letzten Modifizierungsschrittes ist.

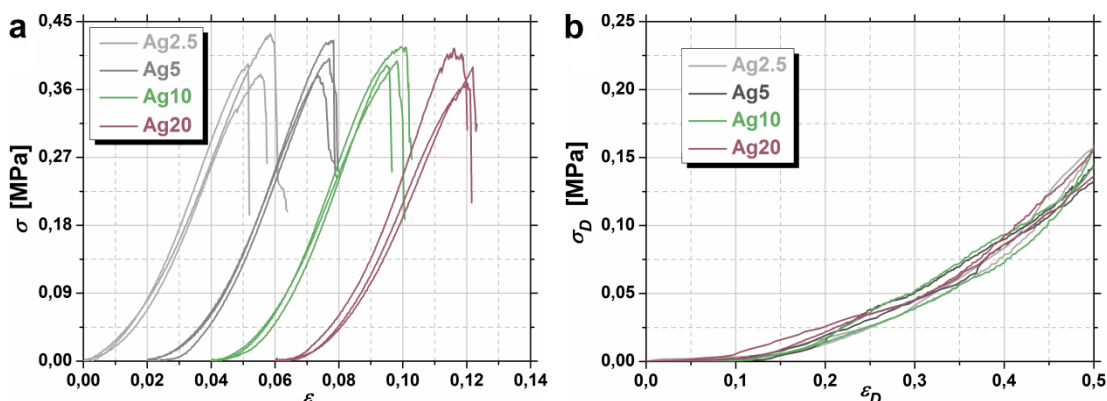


Abb.37: a) Spannungs-Dehnungs-Diagramm (zur besseren Darstellung der Graphen ist bei jeder Probenserie ein kumulativer X-Achsen-Versatz von $\epsilon = 0,02$ hinzugefügt) und b) Druckspannungs-Stauchungs-Diagramm von den modifizierten Ag-BNC-Hybriden Ag2.5, Ag5, Ag10 und Ag20.

Im Rahmen der Kompressionsuntersuchungen wurde beobachtet, dass Wasser bei zunehmender Kompression freigesetzt wird. Zudem versagen die Hybride nicht. Dieses Verhalten korreliert zu dem von BNC des GX-Stamms GX1 (Abb.21). Wie bei den Zugfestigkeitsuntersuchungen ähneln sich die Kurvenverläufe aller Ag-BNC-Hybride sehr stark. (Abb.37b und Abb.20a). Die Druckspannungswerte bei einer Stauchung von 50 % liegen jedoch im Bereich zwischen 0,139 MPa und 0,154 MPa und sind im Vergleich zu BNC von GX1 etwas geringer (Tab.10).

Probe	Ag2.5	Ag5	Ag10	Ag20
R_m [MPa]	$0,385 \pm 0,034$	$0,388 \pm 0,025$	$0,405 \pm 0,016$	$0,395 \pm 0,030$
ϵ_m	$0,058 \pm 0,004$	$0,056 \pm 0,004$	$0,056 \pm 0,003$	$0,059 \pm 0,004$
σ_{D50-10} [MPa]	$0,154 \pm 0,002$	$0,139 \pm 0,009$	$0,148 \pm 0,011$	$0,146 \pm 0,013$

Tab.23: Aus dem Zugversuch ermittelte Zugfestigkeit R_m und die zugehörige Dehnung bei R_m (ϵ_m) sowie die aus den Kompressionsuntersuchungen ermittelte Druckspannung bei 50 % Stauchung und einer Kompressionsgeschwindigkeit v_{druck} von 10 mm/min (σ_{D50-10}) von den modifizierten Ag-BNC-Hybriden Ag2.5, Ag5, Ag10 und Ag20.

4.3.5. Antimikrobielle Eigenschaften der Hybride

Die vermehrungsfähigen Bakterienkolonien (CFU), die durch die Kultivierung von *E. coli*-Suspensionen auf Agar-Platten erhalten wurden, dienen zur Bestimmung der antimikrobiellen Aktivität der Ag-BNC-Hybride. Für die Untersuchungen wird BNC, welche mit einer AgNO_3 -Konzentration von $c_{\text{AgNO}_3} = 5,0 \cdot 10^{-3}$ mol/l (Ag5) hergestellt wurde, verwendet. Unbehandelte BNC (GX1) dient als Referenz.

Durch den Kontakt der Bakterien-Suspension mit der Ober- und Unterseite von BNC und deren anschließenden Kultivierung, bilden sich für die Oberseite 22 (Abb.38a) und für die Unterseite 24 (Abb.38c) vermehrungsfähige Bakterienkolonien n_{Kol} für die höchste Verdünnung (2. Quadrant: 1:1000). Das entspricht etwa $7 \cdot 10^5$ CFU/ml. Im Gegensatz dazu ist keine Kolonie bei allen Verdünnungsstufen für die Ober- oder Unterseite der Ag-BNC-Hybride Ag5 detektierbar (Abb.38b und d).

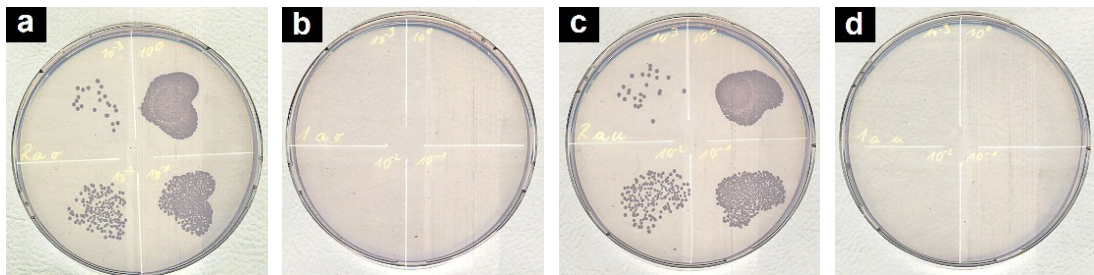


Abb.38: Vermehrungsfähige Bakterienkolonien n_{Kol} , bestimmt mittels Plattentropf-Test, für die Oberseite (a und b) sowie für die Unterseite (c und d) von GX1 (a und c) sowie für den Ag-BNC-Hybrid Ag5 (b und d). Bei allen Aufnahmen befindet sich im 1. Quadranten die 1:1, im 2. Quadranten die 1:1000, im 3. Quadranten die 1:100 und im 4. Quadranten die 1:10 Verdünnungsreihe der Bakterien-Suspension.

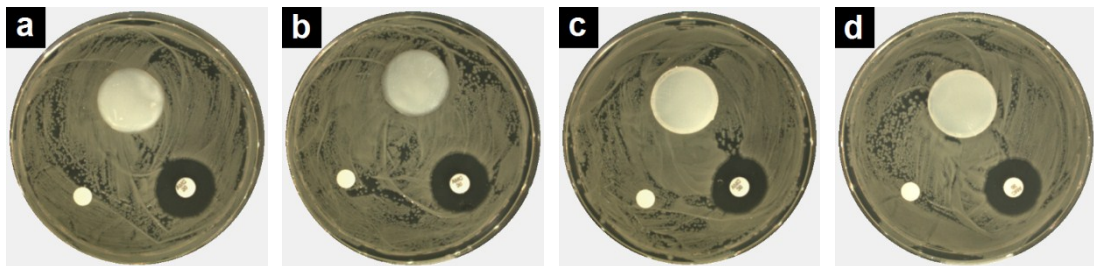


Abb.39: Ergebnisse des Agar-Diffusionstests für die Oberseite (a und b) sowie für die Unterseite (c und d) von GX1 (a und c) sowie für den Ag-BNC-Hybrid Ag5 (b und d). Bei allen Aufnahmen (a-d) ist die Probe oben, die Negativkontrolle (Papierscheibe) unten links und die Positivkontrolle (Papierscheibe mit Amoxicillin/Clavulansäure) unten rechts positioniert.

Die gefundenen Ergebnisse können mit dem BTG-Test bestätigt werden (Tab.24 und Abb.A21b, Anhang). Die Lumineszenz-Signale der Hybrid-Oberflächen sind im Vergleich zur Ausgangslumineszenz der *E. coli*-Suspension stark reduziert und kaum noch messbar. Für den Ag-BNC-Hybrid Ag5 werden an der Oberseite 98,6 % und an der Unterseite 99,5 % der Bakterienpopulation reduziert. Hingegen steigt das Lumineszenz-Signal der BNC-Referenzprobe vom Ausgangswert ($I_L = 75000$ counts) auf 110000 counts an der Oberseite bzw. 90000 counts an der Unterseite. Das bedeutet, dass sich die Bakterien auf reiner BNC vermehren (Tab.24 und Abb.A21b, Anhang). Im Gegensatz dazu werden sie im direkten Kontakt mit Ag-modifizierter BNC inaktiviert, wodurch der Ag-BNC-Hybrid antimikrobiell wirkt. Die Resultate des CFU-

Tests und des BTG-Tests sind konform. Die weniger starke Reduktion der Bakterien bei Durchführung des BTG-Tests lässt sich auf ein verfahrensbedingtes Hintergrundrauschen zurückführen.⁹⁴

Schicht	Eigenschaft	GX1	Ag5
Oberseite	n_{Kol}	24 ± 1	0
	CFU [ml ⁻¹]	783333 ± 23570	0
	I_L [counts]	110091 ± 7462	1293 ± 193
Unterseite	n_{Kol}	22 ± 4	0
	CFU [ml ⁻¹]	733333 ± 141421	0
	I_L [counts]	89955 ± 10078	515 ± 107

Tab.24: Zahl der ausgezählten Bakterienkolonien n_{Kol} bei der höchsten Verdünnung (Abb.38: 2. Quadrant), die daraus berechneten CFU (Dreifach-Bestimmung) sowie die durch den BTG-Test ermittelten Lumineszenzen I_L an der Ober- und Unterseite von GX1 und des Ag-BNC-Hybrids Ag5.

Um die Freisetzung von Ag-Ionen und Ag-Nanopartikeln zu untersuchen, wurde der Agar-Diffusionstest verwendet. Die Ergebnisse sind in Abbildung 39 dargestellt. Unbehandelte BNC (Abb.39a und c), der Ag-BNC-Hybrid Ag5 (Abb.39b und d) und die Negativkontrolle (Papierscheibe) bilden nach einer 24-stündigen Inkubation keinen Hemmhof aus. Die *E. coli*-Bakterien, die sich um die Proben herum befinden, werden nicht beeinflusst. Dieses Ergebnis ist unabhängig von der betrachteten Oberfläche (Ober- oder Unterseite). Demgegenüber besitzen die Positivkontrollen (Papierscheibe mit Amoxicillin/Clavulansäure) jeweils einen Hemmhof, der einen Durchmesser von $d_H = 19 - 20$ mm hat. In Verbindung mit den anderen Tests zeigt dies, dass die Ag-Nanopartikel an der Hybrid-Oberfläche immobilisiert sind und unter den gewählten Testbedingungen nicht freigesetzt werden. Folglich ist der Ag-BNC-Hybrid Ag5 nur im direkten Kontakt mit den *E. coli*-Bakterien antimikrobiell wirksam.

5. Diskussion

Das große Anwendungspotential von BNC beruht insbesondere auf ihrer hohen Reinheit.^{1,5,8} Diese erlaubt es, die nanofibrillare Morphologie des Materials unmittelbar nach dem biotechnologischen Aufbau zu verwenden.^{17,18} Gleichzeitig eröffnet dies die Möglichkeit, die Morphologie durch die Wahl der Synthesebedingungen auf molekularer und supramolekularer Ebene direkt zu beeinflussen. Dementsprechend können neben den konventionellen *post*-Modifizierungstechniken, welche von pflanzlicher Cellulose bekannt sind,^{1,5} auch *in situ*-Techniken verwendet werden, um die Materialeigenschaften gezielt zu verändern.

5.1. Die Verwendung unterschiedlicher *Gluconacetobacter*-Stämme als *in situ*-Modifizierungsmöglichkeit von BNC

Im Rahmen der Arbeit ist es gelungen, die chemisch-strukturellen Eigenschaften von BNC in Abhängigkeit von dem zur Biosynthese verwendeten *Gluconacetobacter*-Stamm zu beeinflussen. Durch die Anwendung von einheitlichen Synthesebedingungen und standardisierten Charakterisierungsmethoden konnte gezeigt werden, wie die Wahl des Bakterienstamms die molekulare und supramolekulare Organisation von BNC sowie die damit verbundenen mechanischen Eigenschaften beeinflusst. Die Wahl des Bakterienstamms stellt somit eine grundlegende Modifizierungstechnik dar, um mit einer gezielten Veränderung der Synthesebedingungen in die Eigenschaftsbildung von BNC einzugreifen.

5.1.1. Chemisch-strukturelle Materialunterschiede aufgrund des Biosynthese-Prozesses

Obwohl durch die *Gluconacetobacter*-Stämme unterschiedliche BNC-Materialien erzeugt werden, bleibt der prinzipielle Ablauf des biotechnologischen Aufbauprozesses von BNC unbeeinflusst. Dies lässt sich durch die charakteristischen Verläufe des Celluloseaufbaus (Abb.11a), des Glucose-Verbrauchs (Abb.10a) und der CFU-Entwicklung (Abb.10b) bei allen berücksichtigten *Gluconacetobacter*-Stämmen bestätigen. Zudem bilden sie alle ein Vlies, welches infolge der Standkultivierung durch eine anisotrope Struktur gekennzeichnet ist (Abb.4).

Trotz dieses charakteristischen Synthese-Prozesses und obwohl alle untersuchten *Gluconacetobacter*-Stämme nachweislich in der Lage sind, BNC mit hohen Ausbeuten effizient zu synthetisieren,^{1,10,13,15,17,18,24,30,51,142} unterscheiden sich die gebildeten Materialien durch die bakterienstammabhängige Verwertbarkeit der Glucose im Rahmen des Kohlenstoff-Metabolismus (Abb.10a und Abb.11a).^{13,24} In dessen letztem Schritt ist das Enzym Cellulosesynthase dafür verantwortlich, dass UDP-Glucose an das Ende der

wachsenden Glucan-Kette addiert wird.^{5,6,13} Die unterschiedliche Verwertbarkeit der Kohlenstoff-Quelle führt dementsprechend zur Variation des Polymerisationsgrades (Tab.6). GX1 und GX3 sind in der Lage, die im HSM enthaltene Glucose effizient umzusetzen und die größte BNC-Trockenmasse zu produzieren (Tab.4: höchste Ausbeuten Y). Dadurch sind die bestimmbarsten Längen der polymerisierten Glucan-Ketten deutlich größer und zudem stark um die mittleren Molmassen konzentriert (Tab.6: kleiner PDI , $\gamma > 0$). Beide Bakterienstämme unterscheiden sich somit deutlich von GX2 und GH1, die BNC mit geringeren Ausbeuten synthetisieren (Tab.4). Die ineffektive Verwertung der Glucose wird durch einen geringeren Polymerisationsgrad bestätigt (Abb.16a und Tab.6). Zudem sind die Verteilungen der Glucan-Ketten zu kleineren Molmassen verschoben und durch eine größere Polydispersität gekennzeichnet. Das spricht zusätzlich für eine größere Ungleichmäßigkeit während des Polymerisationsprozesses. Dies verdeutlicht, dass sich BNC unterschiedlicher Bakterienstämme trotz des gleichen biotechnologischen Aufbauprinzips bereits auf molekularer Ebene unterscheidet.

Infolgedessen verändert sich auch der weitere Organisationsprozess der molekularen Struktur in Abhängigkeit vom Bakterienstamm. Die unterschiedlich langen Glucan-Ketten werden in Form amorpher Elementarfibrillen über die TCs der Bakterienzelle in das Medium abgegeben.^{5,10,11,19,23} Die parallele Anordnung der Poren an der Oberfläche aller Bakterien führt zur Kristallisation der Elementarfibrillen.^{5,7,11,26,27} Durch deren bakterienstammabhängigen Aufbau kristallisieren sie auf verschiedene Weisen und bilden als Konsequenz unterschiedliche Mikrofibrillen. Da die Aggregation der einzelnen Elementarfibrillen durch die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen benachbarter Elementarfibrillen stattfindet,^{15,23} besitzen längere Glucan-Ketten die Möglichkeit, höhergeordnete Bereiche zu bilden. Aus diesem Grund unterscheiden sich die berechneten Kristallinitätswerte D_c (Abb.16b, Abb.17 und Tab.7). GX1 und GX2, welche durch sehr hohe Polymerisationsgrade und mittlere Molmassen charakterisiert sind, besitzen einen sehr großen Anteil hochgeordneter Bereiche (bis zu 84 %). Hingegen zeigen GX2 und GH1 aufgrund ihrer inhomogeneren Molmassenverteilung, die zusätzlich zu kürzeren mittleren Molmassen verschoben ist, einen größeren Anteil niedriggeordneter Bereiche. Deren Kristallinitätsgrad beträgt deshalb lediglich 76 % (GX2) bzw. 72 % (GH1). Der in Abhängigkeit von den hier verwendeten *Gluconacetobacter*-Stämmen gebildete Bereich der Kristallinität von BNC entspricht auch relevanten Literaturangaben.^{28,108,111} Zudem korrespondiert die Kristallinität von BNC, welche unter Standardbedingungen vom GX-Stamm GX1 synthetisiert wurde, mit Literaturangaben von 86 %.¹⁷

Die Unterschiede im System der intermolekularen Wasserstoffbrückenbindungen beeinflusst neben der Kristallinität auch die Anteile der Cellulose-Modifikation I_α und I_β (Abb.17 und Tab.7). Deren Verhältnis ($I_\alpha : I_\beta$) variiert bakterienstammabhängig um das in

der Literatur angegebene Verhältnis von 2,7 : 1,0.^{23,108} Dieses wird von GX1 und GX3 beinahe erreicht (Tab.7). Hingegen weicht es bei GX2 (2,0 : 1,0) und GH1 (1,9 : 1,0) deutlich ab. Da durch die parallele Porenanordnung an der Bakterienoberfläche die Entstehung von Cellulose der Modifikation I_α bevorzugt stattfindet, deutet das sehr niedrige Verhältnis von GX2 und GH1 auf einen ungleichmäßigeren Aufbauprozess hin. Dies steht in Übereinstimmung mit einer inhomogeneren Molmassenverteilung der Glucan-Ketten (hoher *PDI*) und einer niedrigeren Kristallinität. Hingegen besitzt BNC von GX1 eine größere Menge an Cellulose I_α , was auf eine regelmäßigeren Ordnung und damit höhere Kristallinität schließen lässt. Dies spiegelt sich zudem im Auftreten hochmolekularer und schmalverteilter Glucan-Ketten wider. Dementsprechend kann ein Verhältnis $I_\alpha : I_\beta$ von 2,4 : 1,0 berechnet werden, was in Übereinstimmung mit Werten von Kralisch *et al.* ist.¹⁷

Die gebildeten Mikrofibrillen besitzen eine große spezifische Oberfläche und dementsprechend eine große Anzahl an Hydroxy-Gruppen. Diese begünstigen das Zusammenlagern zu den BNC-Fasern. Der Durchmesser der BNC-Fasern bewegt sich für alle Bakterienstämme im Bereich von 30 nm bis 90 nm (Tab.5). Zwar entspricht das dem in der Literatur beschriebenen Bereich,^{1,13,25,34} dennoch zeigt sich auch hier, dass die jeweilige supramolekulare Struktur von ihrem molekularen Aufbau beeinflusst wird. So besitzen GX1 und GX3 einen Faserdurchmesser von circa 60 nm und ein feinverteiltes Poren- und Tunnelsystem in der mittleren Schicht (Abb.14a, b, e und f). Diese gleichmäßige Organisation kann mit dem langkettigen, gleichartigen und hochgeordneten Aufbau der Mikrofibrillen erklärt werden. Im Gegensatz dazu besitzen GX2 und GH1 einen ungleichmäßigeren mittleren Faserdurchmesser und eine ungleichmäßigere Porenverteilung, die zu größeren Poren verschoben ist (Abb.14c, d, g und h).

Der Organisationsschritt zu BNC-Fasern erfolgt ebenfalls über die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen. Deshalb kann auch umgebendes Wasser in die supramolekulare Struktur integriert werden.^{15,28} Die großen Poren in der Mittelschicht von GX2 und GH1 erlauben die Aufnahme einer großen Wassermenge (Abb.15: hohes WAV). Diese kann jedoch durch die ungleichmäßigere supramolekulare Organisation schlechter zurückgehalten werden (Abb.11b: niedriges WRV). Bei den kleinporigen und gleichmäßiger ausgeprägten Tunnel- und Porensystemen von GX1 und GX3 kann weniger Wasser aufgenommen werden. Jedoch kann es in der homogenen und feinstrukturierten supramolekularen Struktur besser zurückgehalten werden.

5.1.2. Einfluss der Morphologie auf die mechanischen Eigenschaften

Die durch Polymerisation, Kristallisation und Selbstorganisation entstandene Morphologie beeinflusst die darauf aufbauenden mechanischen Eigenschaften.

Einerseits ist hierbei die supramolekulare Struktur zu berücksichtigen.^{1,25,69} Denn durch das Porensystem wird Wasser im Vlies integriert (Abb.15: WAV und Abb.11b: WRV). Dieses spielt eine wichtige Rolle als Platzhalter und Stabilisierungselement.¹ Darüber hinaus sind auch die Kristallinität (Abb.16b, Abb.17 sowie Tab.7) und der Polymerisationsgrad (Abb.16a und Tab.6) wichtige molekulare Strukturgrößen, welche für die Erklärung der mechanischen Eigenschaften beachtet werden müssen.⁴¹

Die Untersuchungen zur Zugfestigkeit von BNC liefern für jeden *Gluconacetobacter*-Stamm einen charakteristischen Kurvenverlauf (Abb.18a). Dennoch ist das generelle Verhalten der *never-dried* BNC unter Zugbelastung unabhängig vom betrachteten Bakterienstamm.^{40,143} Während der Tests wird in allen Materialien eine Orientierung der wahllos verschlachten BNC-Fasern in Deformationsrichtung induziert (Abb.19), welche zur Verdichtung des Netzwerks führt (Abb.19b). Diese Strukturveränderung ist insbesondere in der nanofibrillaren Mittelschicht der Vliese beobachtbar (Abb.19b). In diesem Zusammenhang ist die allmähliche Freisetzung von Wasser aus dem Probekörper zu beobachten. Die Abwesenheit eines linear elastischen Bereichs bedeutet, dass bereits geringe Deformationen ausreichen, um Umordnungsprozesse des BNC-Netzwerks zu initiieren (Abb.19 und Abb.A12, Anhang). In Verbindung mit einer zeitabhängigen Relaxation der Netzwerkstruktur bei Entlastung ist *never-dried* BNC durch ein viskoelastisches Materialverhalten charakterisiert.^{40,41}

Die Orientierung in Richtung der Beanspruchung hängt u.a. vom Kristallinitätsgrad des Materials ab. BNC mit einer größeren Anzahl kristalliner Bereiche weist mehr Wechselwirkungen zwischen den Fibrillen auf (Abb.2: Wasserstoffbrücken-System). Demzufolge ist der Widerstand gegenüber einer Deformation größer.¹⁴⁴ Das bedingt geringere Dehnungen und höhere Festigkeiten unter Zugbelastung.¹⁴⁴

Aus diesem Grund besitzen GX1 und GX3 die höchsten Zugfestigkeiten (Tab.9). Diese liegen in einem vergleichbaren Spannungsbereich und können auf die ähnliche nanofibrillare Netzwerkstruktur mit hohem Kristallisationsgrad zurückgeführt werden (Tab.5 und Tab.7). GX1 und GX3 besitzen im Vergleich zu GX2 und GH1 neben dem höheren Kristallisationsgrad zusätzlich eine homogener ausgebildete supramolekulare Struktur, wodurch das Material mechanisch isotroper wirkt.¹⁴⁵ Darüber hinaus sind die Fibrillen von GX1 und GX3 aus längeren Glucan-Ketten aufgebaut (Abb.16a und Tab.6). Langkettige und homogen verteilte Fibrillen können sich gleichmäßiger entschlafen. Dadurch treten lokale Spannungsüberhöhungen, die zum Versagen der lasttragenden BNC-Fasern führen, erst bei höheren Zugspannungen auf.¹⁹

In der Literatur wird zudem angegeben, dass das Versagen direkt mit dem Polymerisationsgrad zusammenhängt.³³ Der allgemeine Einfluss der Molmasse von Polymeren auf deren Zugfestigkeit, trifft auch auf BNC zu (Tab.6 und Tab.8).¹⁴⁶ Für sehr geringe M_n ist die Zugfestigkeit sehr gering (GH1). Hingegen steigt sie sehr schnell mit steigender Molmasse an (GX2) und erreicht schließlich einen maximalen

Plateaubereich.¹⁴⁶ Dementsprechend besitzen GX1 und GX3 miteinander vergleichbare Zugfestigkeiten, die höher sind als die von GX2 und GH1.

Der positive Einfluss einer steigenden Molmasse auf die Zugfestigkeit von BNC konnte ebenfalls von Keshk für den Bakterienstamm GX2 gezeigt werden.¹⁴⁵ Der konträre Fall wurde im Rahmen einer schrittweisen Oxidation von BNC beschrieben (Abb.1: Glucan-Ketten).^{133,147} Durch den initiierten Kettenabbau sank die Zugfestigkeit von $R_m = 0,60$ MPa auf $R_m = 0,27$ MPa für den Bakterienstamm X-2 bzw. von $R_m = 0,16$ MPa auf $R_m = 0,10$ MPa für den Stamm GX3.^{133,147}

Die deutlich höhere Dehnung von GX3 im Vergleich zu GX1 kann mit der stärkeren Ausprägung der anisotropen Vliesstruktur erklärt werden (Abb.3 und Abb.4). Beim Aufbringen einer Zugbelastung wird diese auf den kompletten Probenquerschnitt übertragen. Die BNC-Fasern orientieren sich in Deformationsrichtung. In der zufällig geordneten Netzwerkstruktur der Mittelschicht entstehen durch die zufällig verteilten Netzwerk-Knotenpunkte (z.B. durch Zellteilung und Zellbewegung während der Biosynthese) lokale Spannungsunterschiede. In Bereichen, in denen die Spannung bereits einen kritischen Wert überschritten hat, versagen die BNC-Fasern.^{40,41} Aufgrund der anisotropen Schichtstruktur ist die Vernetzung der Schichten untereinander weniger stark ausgebildet als in den Schichten selbst (Abb.21). Demzufolge tritt das Versagen bevorzugt in den schwächer vernetzten Bereichen zwischen den Schichten auf. Während des Versagensprozesses gleiten die Vliesschichten entlang der Deformationsrichtung (Abb.19 und Abb.21). So tritt während des Spannungsanstiegs kurzzeitig ein Spannungsabfall im Verlauf des Spannungs-Dehnungs-Diagramms auf (Abb.18a). Diese anisotrope Schichtausbildung ist für GX3 markanter ausgeprägt als für GX1 (Abb.19 und Abb.A12a, Anhang). Ähnliche Beobachtungen zum Abgleiten einzelner Schichten beim Versagen unter Zugbelastung wurden von McKenna *et al.* für BNC vom GX-Stamm ATCC® 53524 beschrieben.⁴⁰ Dieses Verhalten ist für alle untersuchten GX-Stämme charakteristisch und bewirkt, dass die Dehnung am Punkt der Zugfestigkeit stets leicht variiert (Tab.8).

Der GH-Stamm GH1 zeigt im Rahmen der Zugfestigkeitsuntersuchungen einen leicht abweichenden Versagensmechanismus als die GX-Stämme. Die vorhandene unregelmäßigere Porenstruktur ruft bereits unmittelbar bei Einleitung der Zugbelastung eine unregelmäßige Kraftverteilung im Netzwerk hervor. Vor allem die breite Molmassenverteilung von GH1 bewirkt (Abb.16a), dass in den kurzkettigeren Fasern lokal Spannungsüberhöhungen auftreten. Diese führen zu einem schnelleren Versagen (Abb.A12b, Anhang).⁴¹ Dadurch weist GH1 im Vergleich zu den anderen Materialien eine weniger ausgeprägte Orientierung der Netzwerkstruktur in Deformationsrichtung auf (Abb.A12b, Anhang).

GH1 besitzt zudem die Fähigkeit, durch die geringere Kristallinität (mehr Hydroxy-Gruppen verfügbar) und die großen Poren eine große Wassermenge aufzunehmen

(Abb.15). Das Wasser wird jedoch durch die geringe Cellulose-Masse (Abb.11a), die unregelmäßigeren Faserdurchmesser und die großen Poren kaum zurückhalten (Tab.4 und Tab.5). Das bedeutet, dass während der Zug- und Kompressionsuntersuchungen das im Vlies enthaltene Wasser bereits durch geringe Spannungen freigesetzt werden kann (Abb.18a und Abb.20a). Demzufolge sind einerseits die auftretenden Dehnungen bei den Zugfestigkeitsuntersuchungen deutlich höher als bei GX1 und GX3, die eine kleinporeige supramolekulare Struktur besitzen und ein kleines WAV aufweisen. Andererseits erreicht GH1 kleinere Druckspannungswerte bei 50 % Stauchung, da das WRV deutlich kleiner ist als das von GX1 oder GX3.

Ein vergleichbares Verhalten wurde in der Literatur ebenfalls für BNC beschrieben, nachdem diese mit NaOH behandelt wurde.^{39,40,52} Durch das Auflösen intermolekularer Wasserstoffbrückenbindungen nimmt der Ordnungszustand der molekularen Struktur ab (Abb.2). Es wird mehr Wasser aufgenommen, sodass höhergequollene Zustände entstehen. Infolgedessen sinkt die Zugfestigkeit bei gleichzeitiger Zunahme des WAV.^{39,40,52} Diese Aussage stimmt auch mit Ergebnissen von Cybulska *et al.* überein, die mit einem steigenden Wassergehalt eine sinkende Festigkeit für BNC gefunden haben.¹⁴³

Der beschriebene Einfluss der BNC-Morphologie auf die mechanischen Eigenschaften lässt sich auch in Abhängigkeit von der Kultivierungszeit nachweisen (Abb.18b). Die zeitabhängige Zunahme der Cellulose-Masse im Material reduziert das WAV für alle *Gluconacetobacter*-Stämme (Abb.15).¹⁴⁵ Darüber hinaus nimmt die Ordnung des BNC-Faser-Netzwerks durch die Zunahme der nanostrukturierten Mittelschicht zu. Infolgedessen weist die Zugfestigkeit ebenfalls einen charakteristischen Kurvenverlauf auf (Abb.18b), welcher der zeitabhängigen Veränderung des WRV und der Trockenmasse entspricht (Abb.11). Zudem korreliert dies mit der Zunahme des Polymerisationsgrades während der Biosynthese.¹²⁸

Die zeitabhängigen Ergebnisse der Zugfestigkeit widersprechen bisherigen Literaturangaben.⁴⁰ Dort wurde beschrieben, dass die Zugfestigkeit mit zunehmender Kultivierungszeit ($d_k = 2$ bis 4d) tendenziell abnimmt, obwohl die Cellulose-Masse zunimmt.⁴⁰ Demnach bilden zunehmende Heterogenitäten der Faser-Verflechtung die Versagensursache. Eine Zunahme der Vliesdicke ändert aber lediglich die Anzahl der miteinander vernetzten Schichten. Dadurch ändert sich jedoch nicht der Versagensmechanismus, welcher durch eine lokale Spannungsüberhöhung kürzerer BNC-Fasern angegeben wurde. Zudem spricht für die zeitabhängige Zunahme der Zugfestigkeit, dass auch der Polymerisationsgrad mit zunehmender Kultivierungszeit steigt.¹²⁸

Bei der Einbeziehung des Kompressionsverhaltens in Abhängigkeit von der Kultivierungszeit spielt die Zunahme der Vliesdicke ebenfalls eine wichtige Rolle (Abb.20b). Zu Beginn der Synthese ist das Vlies sehr dünn und besitzt einen geringen

prozentualen Anteil der feinstrukturierten Mittelschicht (hohes WAV: Abb.15 und geringes WRV: Abb.11b). Durch den Aufbau der mittleren Schicht steigt die Fähigkeit der supramolekularen Struktur, Wasser im Netzwerk zu halten (WRV). Dementsprechend steigt auch der Widerstand, dieses unter Druckbelastung freizusetzen. Zudem bedingt die Zunahme der Vliesdicke einen größeren Feststoffgehalt und einen längeren Transportweg des Wassers durch das Vlies. Beides führt zur Steigerung der aufgebauten Spannung und wurde in der Literatur ebenfalls beobachtet.⁵¹

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Möglichkeit besteht, die Eigenschaften von BNC durch die Wahl des Bakterienstamms während der Biosynthese gezielt zu verändern. Dabei ist die Verwertbarkeit der zur Verfügung stehenden Kohlenstoff-Quelle durch den jeweiligen Bakterienstamm entscheidend für den schrittweisen Organisationsprozess von BNC. Die dadurch hervorgerufene Beeinflussung von Polymerisation, Kristallisation und Selbstorganisation führen *in situ* zur Entstehung von Materialien mit verschiedenen molekularen und supramolekularen Strukturen sowie chemisch-mechanischen Eigenschaften.

Zudem stellen die erhaltenen Ergebnisse erstmals den direkten Zusammenhang zwischen chemisch-strukturellen und mechanischen Eigenschaften von BNC unterschiedlicher Bakterienstämme her. Obwohl die Bakterienart *Gluconacetobacter xylinus* für die Untersuchungen als Modellmikroorganismus und für Scale-up-Prozesse von BNC am weitesten untersucht wurden ist,^{5,6,13,17} war bisher unklar, welchen Einfluss der verwendete Bakterienstamm auf die chemisch-mechanischen Eigenschaften von BNC hat. Ursache war die Verwendung uneinheitlicher, nicht standardisierter Kultivierungsbedingungen.^{38,39,40,41,46,69,131,143,145} Denn trotz Verwendung eines ausgewählten Bakterienstamms zur Biosynthese, können durch die Wahl des Kultivierungsmediums oder der Kultivierungsbedingungen nicht miteinander vergleichbare molekulare und supramolekulare Strukturen entstehen (Abb.3). Als Folge bildeten bisher unterschiedliche chemisch-strukturelle Materialeigenschaften die Basis für eine mechanische Charakterisierung, wodurch eine vergleichende Bewertung auf Basis von Literaturdaten bisher nicht möglich war.

5.2. *In situ*-Herstellung von photokatalytisch aktiven Hybriden auf Basis von BNC und Anatas-Nanopartikeln

Die Eigenschaftsmodifizierung von BNC kann durch die gezielte Wahl der Kultivierungsbedingungen erfolgen. Daneben besteht die Möglichkeit, Additive zum Kultivierungsmedium hinzuzugeben. Dadurch können die Eigenschaften von BNC *in situ* mit denen von funktionellen Materialien erweitert werden.

Aufbauend auf dieser Modifizierungstechnik ist es im Rahmen der Arbeit gelungen, ein Verfahren zu entwickeln, um photokatalytisch aktive Anatas-Nanopartikel während der Biosynthese in die entstehende nanofibrillare Netzwerkstruktur von BNC zu integrieren. Durch die gleichzeitige Entstehung der BNC-Trägerstruktur und der funktionellen Eigenschaftserweiterung werden bei dieser *in situ*-Modifizierungsmethode keine Nachbehandlungsschritte erforderlich, um einen photokatalytisch aktiven BNC-Hybrid herzustellen.¹⁴⁸ Im Vergleich zu bisher beschriebenen *post*-Modifizierungstechniken ist deshalb keine zusätzliche Temperaturbehandlung erforderlich,^{59,78} um beispielsweise die Bildung der kristallinen TiO_2 -Schicht zu initiieren.⁷⁸ Dementsprechend bleibt der Hydrogelcharakter des Materials erhalten. Dieser ist im Rahmen von photokatalytischen Abbau-Reaktionen von Schadstoffen von Vorteil, da oftmals postuliert wird, dass sie in wässrigen Umgebungen stattfinden (z.B. Trinkwasserreinigung).^{82,85,86}

5.2.1. BNC-Bildung in Gegenwart von Nanopartikeln

Die extrazelluläre Synthese von BNC wird durch die Bakterien unter aeroben Bedingungen und unter Ausnutzung einer Kohlenstoff-Quelle (HSM: Glucose) durchgeführt. Der initiale Prozess ist die Vermehrung der Bakterienpopulation im Medium. Nach der Inokulation (Abb.40: $d_K = 0\text{d}$) steigt die Bakterienzahl durch den Verbrauch des im Kultivierungsmedium gelösten Sauerstoffs leicht an (Abb.24b).³⁰ Obwohl sich die Bakterien nicht an der Grenzfläche zwischen Kultivierungsmedium und Luft (Sauerstoff) befinden (Abb.40: $d_K = 1\text{d}$), wird Cellulose von den Bakterien hergestellt (Abb.25a). Die Menge ist jedoch sehr gering, da die Cellulose-Produktion proportional zur Rate der Bakterienvermehrung ist.⁵ Kohlenstoffdioxid, ein Produkt des Kohlenstoff-Metabolismus der Bakterien, wird in die im Medium entstehende BNC integriert.^{5,11} Durch die Verringerung der Dichte steigen die Bakterien, welche in die BNC integriert sind, an die Grenzfläche des Kultivierungsmedium auf (Abb.40: $d_K = 2\text{d}$).

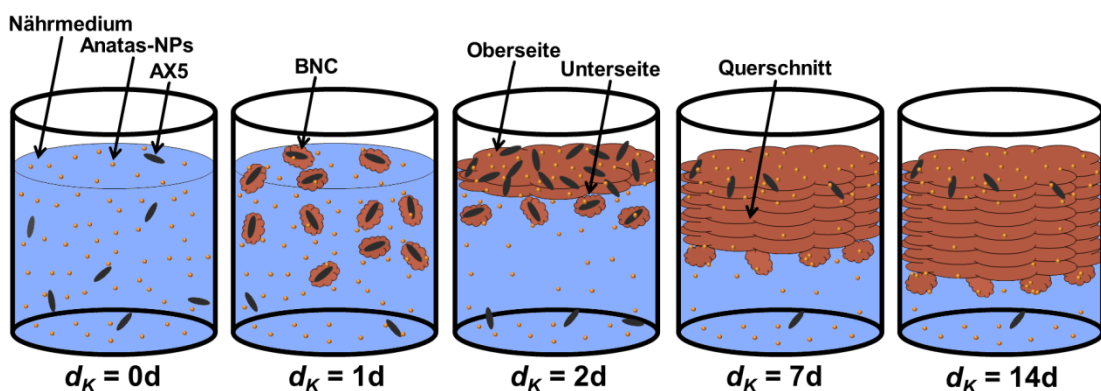


Abb.40: Schematische Darstellung der BNC-Synthese in Gegenwart der Anatas-Nanopartikel bei statischer Kultivierung in Abhängigkeit vom Kultivierungstag d_K .

Unter Berücksichtigung der CFU-Entwicklung konnte gezeigt werden (Abb.24b), dass dieser Prozess durch die Zugabe von photokatalytisch aktiven Anatas-Nanopartikeln zum Kultivierungsmedium nicht beeinflusst wird. Die CFU-Werte bleiben im Vergleich zum Referenz-Medium (T00, ohne Nanopartikel) für alle Hybride unverändert. Die TiO_2 -Nanopartikel beeinflussen die Bakterienvermehrung unter den gewählten Kultivierungsbedingungen in Dunkelheit nicht. Das gleiche Verhalten wurde in der Literatur für *E. coli*-Bakterien beschrieben.^{87,149} Maness *et al.* zeigten, dass der photokatalytische bzw. antimikrobielle Effekt von TiO_2 in Dunkelheit verschwindet.¹⁵⁰ Die CFU-Werte von *E. coli*-Suspensionen wurden durch die Gegenwart von TiO_2 nicht beeinflusst. Erst bei Kultivierung unter Lichtbestrahlung sank die Anzahl der CFU in Gegenwart von TiO_2 signifikant.^{149,150} Gleiche Ergebnisse wurden auch von Rincón & Pulgarin gefunden.^{101,102} Dies zeigt, dass die Durchführung der *in situ*-Modifizierung in Dunkelheit unerlässlich ist.

Durch die Erhöhung der Anatas-Konzentration im Medium werden mehr Nanopartikel in die BNC integriert. Die Dichte des Materials steigt. Gleichzeitig verringert sich die Auftriebskraft im Vergleich zum unmodifizierten Kultivierungsmedium. Dadurch besitzen die Bakterien einen zeitlich verzögerten Zugang zur Grenzfläche. Obwohl die gleiche Bakterienanzahl nach zwei Kultivierungstagen im Medium existiert (Abb.24b), ist die Zunahme der Trockenmasse (Abb.25a) zeitlich verzögert und nimmt im Vergleich zu unmodifizierter BNC weniger stark zu (Abb.11a). Als Ursache sind längere anaerobe Bedingungen anzunehmen, bei dem GX unfähig ist Glucose zu metabolisieren (Fehlen von Phosphofruktokinase).⁵ Infolgedessen wird auch die Polymerisation und die Kristallisation beeinflusst. So nimmt der Kristallisationsgrad durch die verzögerte Verwertung der Glucose tendenziell ab (Abb.23 und Tab.12). Gleichzeitig kommt es später zur Organisation der nanofibrillaren Mittelschicht von BNC. Aus diesem Grund ist auch die zeitliche Abnahme des WAV um etwa zwei Kultivierungstage verzögert und erreicht nicht die Werte von unmodifizierter BNC (Abb.15 und Abb.26). Auf gleiche Weise wird auch das WRV beeinflusst. Es entsteht eine leicht veränderte supramolekulare Struktur, die sich zudem in einem veränderten Porensystem niederschlägt. Folglich fungieren die Anatas-Nanopartikel als eine Art Struktur-Modifizierer während der BNC-Biosynthese.

Die an die sauerstoffreiche Grenzfläche gelangten Bakterien führen die Synthese fort.⁵ Im Rahmen der Synthese werden schrittweise neue BNC-Schichten synthetisiert (Abb.40: $d_K = 7\text{d}$).³⁰ Als Folge steigt die Dicke des Vlieses. Die Dickenzunahme verhindert die Diffusion von Nährmedienbestandteilen zur Grenzfläche. In Verbindung mit dem Verbrauch der Glucose im Medium hat das zur Folge, dass sich die Synthese allmählich verlangsamt und nach etwa 9 Tagen beendet ist (Abb.40: $d_K = 7\text{d} - 14\text{d}$). Nach Abschluss der Synthese ist eine leicht zurückgegangene Ausbeute zu beobachten

(Tab.14). Diese beruht auf dem zeitlich verzögerten Zugang der Bakterien zur Grenzfläche.

Die Integration der Nanopartikel im nanofibrillaren Netzwerk der Hybride kann durch die Betrachtung der Querschnitte erklärt werden (Abb.22b, e, h und k). Aus den REM-Aufnahmen wird deutlich, dass sich die Nanopartikel hauptsächlich an die BNC-Fasern anlagern bzw. zwischen den Mikrofibrillen liegen (Vergleich mit Abb.41b). Diese Beobachtung kann mit dem Synthese-Prozess, dem daraus resultierenden Hydrogelcharakter des hierarchisch aufgebauten Materials sowie durch die verwendeten TiO_2 -Nanopartikel erklärt werden.

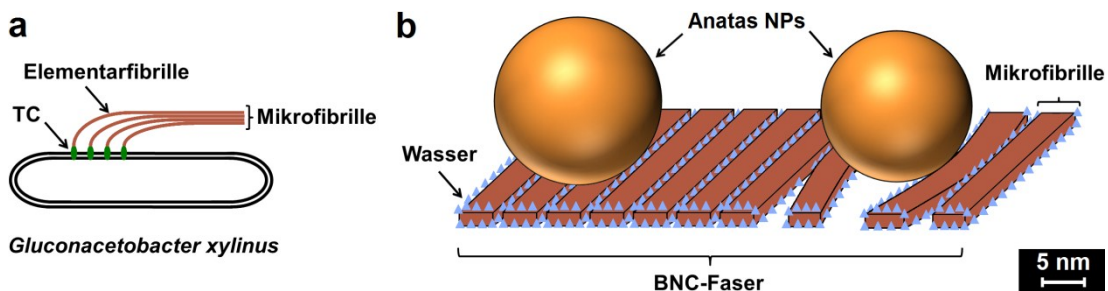


Abb.41: a) Prinzipieller Prozess der Biosynthese von BNC durch den GX-Stamm DSM 14666 sowie b) die modellhafte Integration der LAVA-Nanopartikel in die BNC-Netzwerkstruktur.

Während der Biosynthese bleibt der Kohlenstoff-Metabolismus der Bakterien durch die Zugabe der Nanopartikel zum Kultivierungsmedium unbeeinflusst. Dementsprechend geben die Bakterien (Länge circa $1\ \mu\text{m}$) die Glucan-Ketten in Form von amorphen Elementarfibrillen (Durchmesser: $1,5\ \text{nm}$) über die TCs in das Medium ab (Abb.41a).^{1,6,27} An der Bakterienoberfläche liegen 50 - 80 TCs entlang der Längsachse hintereinander.⁵ Durch die geringen Abstände zwischen den TCs ($3,8$ Poren pro $100\ \text{nm}$)¹⁵¹ können keine Nanopartikel zwischen die Elementarfibrillen gelangen (Abb.41). Die Selbstorganisation und Kristallisation von Elementar- zu Mikrofibrillen (Durchmesser: $3\ \text{nm}$ bis $5\ \text{nm}$) findet statt.²⁷ Dennoch beeinflussen die Nanopartikel diesen Schritt. Deren Präsenz führt zu einer tendenziellen Abnahme des Kristallinitätsgrades (Abb.23 und Tab.12), da die oberflächlichen Titanatome bzw. Sauerstoffatome der Nanopartikel mit den Hydroxy-Gruppen der BNC wechselwirken können.^{152,153} Ähnliche Effekte wurden auch bei der Zugabe von Calcofluor beschrieben. Dessen Gegenwart im Kultivierungsmedium führt zur Reaktion mit den Hydroxy-Gruppen der Glucan-Ketten, sodass der Kristallisationsschritt zu Mikrofibrillen stark behindert wird.^{6,24}

Die Nanopartikel beeinflussen diesen Prozess hingegen nur geringfügig, sodass sich die Mikrofibrillen anschließend zu den BNC-Fasern (Durchmesser: $40\ \text{nm}$ bis $60\ \text{nm}$) organisieren können.^{6,10} Während dieses Organisationsschrittes kann die große spezifische Oberfläche der Mikrofibrillen stark mit ihrer Umgebung wechselwirken.¹⁵ Als

Folge wird eine große Wassermenge zwischen den BNC-Fasern und um sie herum integriert (Solvathüllen).^{25,142}

Durch die Gegenwart der Nanopartikel im Medium besteht die Möglichkeit, dass diese ebenfalls mit den Hydroxy-Gruppen der Mikrofibrillen in Wechselwirkung treten.^{63,65,66} Es können koordinative Bindungen mit oberflächlichen Titanatomen bzw. Sauerstoffatomen eingegangen werden.^{152,153} Aus diesem Grund lagern sich die Nanopartikel sowohl auf den BNC-Fasern als auch zwischen den Mikrofibrillen an (Abb.41).

Die Integration der Nanopartikel führt dazu, dass der BNC-Faserdurchmesser in Abhängigkeit von der verwendeten Anatas-Konzentration steigt (Abb.22b, e, h und k und Tab.11). Ein Grund ist darin zu suchen, dass eine erhöhte Nanopartikel-Konzentration im Kultivierungsmedium die Wahrscheinlichkeit einer Wechselwirkung mit einer Hydroxy-Gruppe erhöht. Folglich werden mehr Nanopartikel integriert.

Die leichte Beeinflussung der Kristallisation hat zudem zur Folge, dass die Organisation zu den BNC-Fasern durch die Erhöhung der Anatas-Konzentration ungleichmäßiger verläuft. Es entsteht eine großporigere supramolekulare Struktur (Tab.11), die zudem die tendenzielle Zunahme des WAV und die leichte Abnahme der Zugfestigkeit begründet (Abb.26 und Abb.27a).

Das zeigt, dass die Möglichkeit besteht, die photokatalytisch aktiven Nanopartikel während der Biosynthese von BNC *in situ* in die entstehende Trägerstruktur zu integrieren. Die große spezifische Oberfläche und die große Anzahl von OH-Gruppen des hochreinen Materials können gezielt ausgenutzt werden. Durch die Wahl der Anatas-Konzentration im Kultivierungsmedium kann die Menge integrierter Nanopartikel gesteuert werden. Zwar beeinflussen die Nanopartikel die entstehende molekulare und supramolekulare Struktur, dennoch bleibt der vorteilhafte Hydrogelcharakter von BNC erhalten. Darüber hinaus sind keine weiteren Nachbehandlungsschritte zur Hybrid-Herstellung notwendig. Das zeigt den Vorteil zu bisherigen Methoden zur Herstellung von photokatalytisch aktiven BNC-Hybriden. Bei diesen werden TiO₂-Nanopartikel auf BNC-Templates durch *post*-Modifizierungstechniken abgeschieden.^{58,134,154} Wie bei der *in situ*-Modifizierung beruhen die Techniken auf der großen Anzahl der Hydroxy-Gruppen und dem ausgeprägten Wasserstoffbrücken-System.^{58,134,154} Typischerweise werden Sol-Gel-Techniken ausgenutzt, bei denen Titan-Alkoxide (z.B. Titantetraisopropanolat oder Tetrabutyltitanat) in sauren pH-Wert-Bereichen (z.B. durch Zugabe von Salpetersäure) verwendet werden.^{58,59,78,154} Zwar sind Sol-Gel-Techniken weit verbreitet und recht einfach handhabbar, dennoch werden hohe Temperaturen zur Erzeugung der photokatalytisch aktiven Schicht notwendig.^{58,59,78} Dadurch geht der für Anwendungszwecke wichtige Hydrogelcharakter von BNC verloren. Zudem sind oftmals starke Säuren zur Stabilisierung des Gels erforderlich. Diese können einen negativen Einfluss auf die Stabilität des organischen Templates haben und sind teilweise gesundheitsschädlich.⁵⁸

Die hier dargelegte Methode stellt auch zu anderen Verfahrensansätzen einen Vorteil dar. Bei einer von Zeng *et al.* beschriebenen Methode wurden feuchte Cellulose-Filme aus Baumwoll-Linters verwendet, um TiO_2 -Nanopartikel durch die Hydrolyse eines Tetrabutyltitanat-Precursor-Sols auf dem Cellulose-Template abzuscheiden.¹³⁴ Das Titan-Alkoxid der Lösung kann an der Substratoberfläche adsorbieren und durch die nachfolgende Hydrolyse einen dünnen Nanopartikel-Film bilden. Zwar kann ebenfalls auf eine Temperaturbehandlung der photokatalytischen Trägerstruktur verzichtet werden, jedoch benötigen sie zwei separate Schritte zur Herstellung und zur Funktionalisierung der Trägerstruktur.¹³⁴ Zudem handelt es sich in diesem Zusammenhang lediglich um zweidimensionale Regenerat-Cellulose-Filme und nicht um eine dreidimensionale Netzwerkstruktur.

5.2.2. Verteilung der Nanopartikel im BNC-Hybrid

Die Nanopartikel werden während der Biosynthese auf der Oberfläche der BNC-Fasern als auch zwischen den Mikrofibrillen integriert (Abb.22). Deren Verteilung im dreidimensionalen BNC-Hybrid wird durch den anisotropen Vlies-Aufbau beeinflusst (Abb.22 und Abb.A4, Anhang). Zu Beginn der Synthese sind alle Nanopartikel homogen im Kultivierungsmedium dispergiert (Abb.40: $d_K = 0d$). Innerhalb der ersten beiden Kultivierungstage bildet sich BNC im Kultivierungsmedium (Abb.40: $d_K = 1d - 2d$). Durch die gleichzeitige Integration von Nanopartikeln reduziert sich der Nanopartikel-Gehalt. Die an die Grenzfläche gelangte BNC bildet die Oberseite (Abb.40: $d_K = 2d$). Die hohe Anzahl an Nanopartikeln in dieser Schicht kann durch die REM-Aufnahmen bestätigt werden. Die Menge steigt mit steigender Nanopartikel-Konzentration an (Abb.22 und Tab.13). Sie sind in der kompletten Schicht homogen verteilt (Abb.A4a, d und g, Anhang).

Während der Biosynthese nimmt die Dicke des Materials zu (Abb.40: $d_K = 2d - 14d$). Die Nanopartikel im Medium und solche, welche durch die Probe an die sauerstoffreiche Grenzfläche diffundieren können, werden in die neu gebildeten Schichten integriert (Abb.40: $d_K = 7d$). Die Anzahl der Nanopartikel in der Mittelschicht ist jedoch geringer als die an der Oberseite (Abb.22 und Tab.13). Grund hierfür ist, dass die anfängliche Nanopartikel-Konzentration im Medium durch die BNC-Bildung innerhalb der ersten Kultivierungstage verringert wird (Abb.40: $d_K = 2d$). Allerdings ist erkennbar, dass der Gehalt in der Mittelschicht mit steigender Nanopartikel-Konzentration steigt (Tab.13 und Abb.A4b, e und h, Anhang).

Die Unterseite ist durch eine lockere Struktur charakterisiert (Abb.22c, f, i und l). Durch die Zunahme der Dicke werden zusätzlich auch Nanopartikel aufgenommen, welche im Laufe der ersten Kultivierungstage nicht integriert wurden und sich dementsprechend am Boden des Kultivierungsgefäßes befinden (Abb.40: $d_K = 2d - 7d$). Als Ergebnis wird

eine große Nanopartikel-Anzahl in die Unterseite integriert. Deren Menge hängt ebenfalls von der verwendeten Massenkonzentration ab (Tab.13 und Abb.A4c, f und i, Anhang). Für hohe Konzentrationen, wie bei T20, werden unerwünschte Nanopartikel-Agglomerate sichtbar (Abb.22l und Abb.A4i, Anhang). Die Menge der Nanopartikel an der Unterseite ist höher als die an der Oberseite. Eine Erklärung liegt in den Nanopartikel-Dispersionen. Durch eine steigende Massenkonzentration erhöht sich die Wahrscheinlichkeit, dass Nanopartikel-Agglomeration auftritt, wodurch mehr Nanopartikel im unteren Bereich des Kultivierungsgefäßes zu finden sind.

Obwohl die Anisotropie von BNC die Verteilung der Nanopartikel beeinflusst, nimmt deren Gesamtmenge im BNC-TiO₂-Hybrid mit steigender Nanopartikel-Konzentration zu. Ähnliche Ergebnisse wurden für die Integration von SiO₂-Nanopartikel während der BNC-Synthese beschrieben.⁶⁵ Durch die Erhöhung der Konzentration von SiO₂ konnte auch deren Menge im resultierenden Hybrid gesteigert werden.

Die anisotrope Integration der Nanopartikel in die dreidimensionale BNC-Struktur kann für bestimmte Anwendungen hochinteressant werden. Beispielsweise könnte der Übergang von calciumphosphatreichen subchondralen Knochen zum calciumphosphatarmen Knorpel bei osteochondralen Trägerstrukturen gezielt eingestellt werden. Dadurch könnte die Gewebeneubildung kontrolliert gereizt werden. Eine solche Modifizierung von dreidimensionalen Cellulose-Strukturen eröffnet somit komplett neue Anwendungsmöglichkeiten und stellt im Vergleich zu zweidimensionalen Regenerat-Cellulose-Filmen einen Vorteil dar.

5.2.3. Photokatalytische Aktivität

Die Untersuchungen zeigten, dass die Nanopartikel im BNC-TiO₂-Hybrid weiterhin photokatalytisch aktiv vorliegen. Aus diesem Grund war es unerlässlich, die Biosynthese in Abwesenheit von UV-Strahlung durchzuführen. Darüber hinaus ist die Inaktivität der Referenzproben ein Beleg dafür (Abb.31), dass die Nanopartikel während der Biosynthese keine antimikrobielle Wirkung aufweisen und somit zu keiner negativen Beeinflussung der Bakterienaktivität führen. Diese Aussagen konnten durch die CFU-Messungen bereits nachgewiesen werden (Abb.24b).

Durch die Präsenz der Anatas-Nanopartikel im Kultivierungsmedium und durch deren Integration in den Hybrid steigt die PKA in Abhängigkeit von der verwendeten Massenkonzentration (Abb.29a und Abb.31). Die zugehörigen supramolekularen Strukturen bestätigen diesen Zusammenhang (Abb.22 und Abb.A4, Anhang). Obwohl deren Verteilung von der jeweils betrachteten Schicht abhängt, nimmt die Gesamtmenge im gesamten Hybrid mit steigender Nanopartikel-Konzentration zu (Tab.13 und Abb.A4, Anhang). Dies ist äquivalent mit einer steigenden photokatalytisch aktiven Oberfläche, sodass unter UV-Bestrahlung mehr Radikale erzeugt werden

können (Abb.5). Jedoch fällt auf, dass bei der höchsten Anatas-Konzentration (T20) die PKA annähernd unverändert im Vergleich zum Hybrid T10 mit halb so großer Nanopartikel-Konzentration ist (Abb.29a und Tab.17). Die Annahme, dass das Methanol im Rahmen des Tests verbraucht wurde, konnte durch die Verwendung längerer Bestrahlungszeiten vom BNC-TiO₂-Hybrid T10 widerlegt werden. Selbst nach einer 4-fach längeren Bestrahlungszeit ist noch ein DNPH-Peak im Rahmen der HPLC-Untersuchungen nachweisbar (Abb.A15b, Anhang). Demzufolge scheint ein kompletter Verbrauch von Methanol bei 15-minütiger Bestrahlung von Probe T20 nicht aufzutreten. Jedoch zeigten die Strukturuntersuchungen mittels REM, dass die Probe T20 insbesondere in der unteren Schicht die größten Nanopartikel-Agglomerate aufweist (Tab.17 und Abb.A4g - i, Anhang). Da die PKA einen Oberflächeneffekt darstellt, steht durch eine Nanopartikel-Agglomeration eine geringere Oberfläche zur Bestrahlung zur Verfügung.

Der BNC-TiO₂-Hybrid T10 besitzt die höchste PKA. Diese bleibt bei einer 10-fachen Wiederholung des MK-Tests unverändert. Das zeigt, dass die TiO₂-Nanopartikel in der Trägerstruktur immobilisiert sind. Darüber hinaus ist der Photokatalysator unter UV-Strahlung stabil und wird nicht verbraucht.

Die Immobilisierung der Nanopartikel wird durch die Berücksichtigung unterschiedlicher Reinigungsverfahren bestätigt. So ist die bestimmte Hydroxyl-Radikal-Konzentration des jeweiligen Hybrids unabhängig von der Reinigungsmethode, mit der die Hybride nach der Synthese behandelt wurden (Abb.30). Bei Nicht-Reinigung liegt dieselbe Nanopartikel-Oberfläche zur Verfügung wie nach extremer Handhabung mit 10-facher Autoklavierung. Das bedeutet, dass die Nanopartikel, die während der Synthese integriert wurden, in der Trägerstruktur verbleiben und die gleiche aktive Oberfläche besitzen.

Immobilisierte Nanopartikel oder trägerfixierte Nanopartikel zeigen laut Literatur eine geringere PKA als Nanopartikel-Suspensionen,⁸⁶ da sich bei ihnen die Nanopartikel nicht frei in der Prüflösung bewegen können.¹³⁶ Die freie Bewegung der feinverteilten Nanopartikel führt zu einer größeren exponierten Oberfläche und somit zu einer größeren PKA. Dies konnte auch für die BNC-Hybride nachgewiesen werden. Reine Nanopartikel-Suspensionen bauen im Rahmen des PKA-Tests MB deutlich schneller ab (Abb.A16c, Anhang). Die Dimension der Nanopartikel verstärkt jedoch die Tendenz, durch steigende van-der-Waals-Kräfte und Oberflächenenergien zu agglomerieren.⁵⁶ Daneben ist es technisch sehr nachteilig, nicht immobilisierte Nanopartikel in Suspensionen zu verwenden, da diese aufwendig aufbereitet werden müssen (z.B. Separierung).^{56,86,88}

Die Mechanismen der PKA weisen Parallelen zu den Prinzipien der AMA auf (Abb.6). So beruhen beide auf der Bildung von ROS (z.B. OH[•] oder O₂^{•-}).¹⁵⁰ Dementsprechend zeigt TiO₂ zusätzlich eine antimikrobielle Aktivität unter Lichtbestrahlung.^{58,136,149,150} Das

könnte eine technische Anwendung als poröser Filter für die Wasserdeseinfektion erleichtern. Denn da BNC keinen eigenständigen Schutz gegenüber einem Bakterienbefall besitzt,³⁵ könnte der Hybrid durch die antimikrobiell wirksamen Anatas-Nanopartikel vor der Bildung eines bakteriellen Biofilms geschützt werden.⁵⁸ Untersuchungen zur antimikrobiellen Wirkweise von TiO₂ wurden beispielsweise an *Staphylococcus aureus*, *E. coli* oder *Pseudomonas aeruginosa* durchgeführt.^{58,136,149,150}

5.3. Post-Modifizierung von BNC mit antimikrobiell wirksamen Silber-Nanopartikeln

Neben der unmittelbaren Beeinflussung der Materialeigenschaften von BNC während der Biosynthese, kann die molekulare und supramolekulare Struktur auch durch nachgestellte Modifizierungsschritte verändert werden.

Unter Berücksichtigung dieser Möglichkeit ist es gelungen, Silber-Nanopartikel durch eine schrittweise *post*-Modifizierungsmethode chemisch an die dreidimensionale, nanofibrillare Netzwerkarchitektur zu binden. Diese BNC-Hybride sind als Feuchtwundverband (FWV) im Rahmen einer Wundbehandlung von potentiell Interesse, da ihre antimikrobiell wirksamen Oberflächen *E. coli*-Bakterien inaktivieren und deren Vermehrung verhindern.

Im Vergleich zu bisher beschriebenen Methoden besteht der Vorteil darin, dass die chemische Fixierung der Nanopartikel an die BNC-Fasern dazu führt, dass der funktionelle BNC-Hybrid nur im direkten Kontakt lokal wirkt und keine Nanopartikel in dessen Umgebung freigesetzt werden. Zudem bleiben die außergewöhnlichen Materialeigenschaften von BNC, welche bereits einen großen Teil der Anforderungen an moderne Wundauflagen erfüllen,^{48,61} in beinahe unveränderter Form erhalten.

5.3.1. Auswirkung der strukturellen Eigenschaften von BNC auf die *post*-Modifizierung

Die verwendete Modifizierungsmethode beruht auf einer nass-chemischen Reaktionsabfolge, die bereits erfolgreich an zweidimensionalen Cellulose-Filmen erprobt wurde.^{96,138} Sie besteht aus drei Prozess-Schritten und setzt an der primären OH-Gruppe der C6-Position der Glucan-Kette an (Abb.33).^{96,137,138,141}

Die Ergebnisse für BNC zeigen, dass eine Übertragung dieser Methode auf eine dreidimensionale Netzwerkstruktur möglich ist. Die erfolgreiche Modifizierung mit Silber, in Form von Nanopartikeln, konnte nachgewiesen werden. Sie führt zur chemischen Immobilisierung der Ag-Nanopartikel an den BNC-Fasern (Abb.32 und Tab.18).¹³⁸ Die Reduktion von Silber erfolgt jedoch ausschließlich an den BNC-Fasern der Vlies-Oberfläche (Abb.42 a und d sowie c und f). Dabei ist zu beachten, dass an der

Oberseite die gleiche Nanopartikel-Menge nachweisbar ist wie an der Unterseite (Abb.34 und Abb.A8, Anhang). Eine Modifizierung der mittleren Schicht der Vliese findet nicht statt (Abb.42b und e).

Dieses Verhalten kann durch den Hydrogelcharakter von BNC erklärt werden. Im Vergleich zu dem von Ferrara *et al.* verwendeten Regenerat-Cellulose-Film existiert im dreidimensionalen Tunnel- und Porensystem von BNC ein stark ausgeprägtes Wasserstoffbrücken-System (Abb.2).⁹⁶ Infolgedessen stehen große Wassermengen in Wechselwirkung mit BNC,¹⁰ sodass weniger Hydroxy-Gruppen zur Aktivierung und Modifizierung vorhanden sind (Abb.1 und Abb.33). Dadurch erklärt sich auch, warum an der Ober- und Unterseite von BNC keine Unterschiede in der Nanopartikel-Abscheidung bestehen, obwohl beide durch eine unterschiedliche Morphologie charakterisiert sind (Abb.42a und c). Zudem begründet es die bevorzugte Reduktion von Silber an der Vlies-Oberfläche.

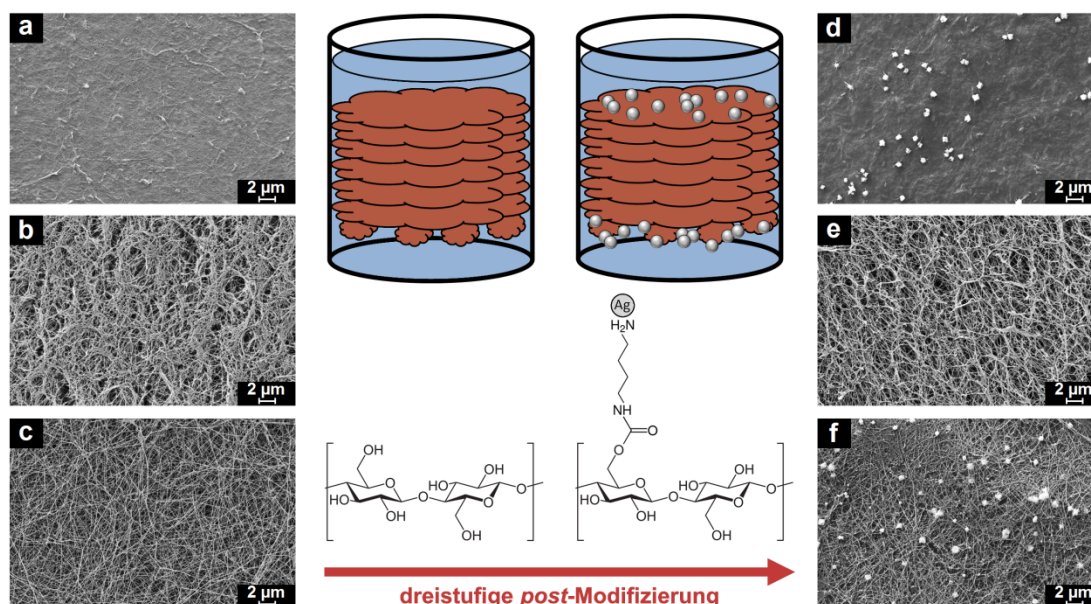


Abb.42: Prinzipielle Verteilung der Ag-Nanopartikel (d, e und f) nach den drei Modifizierungsschritten im Vergleich zu BNC von GX1 (a, b und c) in der oberen (a und d), mittleren (b und e) und unteren Schicht (c und f).

Ähnliche Ergebnisse wurden auch bei der Verwendung anderer Reduktionsmittel beobachtet (z.B. Natriumborhydrid (NaBH_4)).⁹⁵ Im Rahmen der Untersuchungen von Barud *et al.* wurden die Silber-Ionen (aus AgNO_3) durch eine Triethanolamin-Lösung reduziert.⁵⁰ Dabei entstanden zwar circa 8 nm große und homogen verteilte Ag-Nanopartikel. Aber auch hier wurden die Ag-Nanopartikel fast ausschließlich an der Oberfläche der BNC erzeugt. Darüber hinaus wurde die Entstehung von Partikel-Agglomeraten beobachtet. Diese Agglomerat-Erscheinungen treten auch bei der hier verwendeten Methode auf.

Zwar sind Nanopartikel mit einer Größe von 50 nm nachweisbar (Abb.A5, Anhang), dennoch treten bei der Übertragung auf BNC Partikel-Agglomerate bis zu einer Größe von 1 µm auf (Tab.21 und Abb.A8, Anhang). Das System von inter- und intramolekularen Wasserstoffbrückenbindungen erschwert den Zugang zu den Hydroxy-Gruppen. Bei den gegebenen AgNO₃-Konzentrationen sind weniger Reaktionspunkte zur Aktivierung und Modifizierung vorhanden (Abb.1 und Abb.33). Dementsprechend tritt bevorzugt Nanopartikel-Wachstum auf, statt an weiteren Hydroxy-Gruppen eine Abscheidung zu initiieren (Abb.33 und Abb.1: C6-Position).

Um solche Agglomerat-Erscheinungen zu minimieren, wurde im Rahmen der Untersuchungen von de Santa Maria *et al.* überprüft, ob Gelatine oder Polyvinylpyrrolidon bei der Reduzierung der Ag⁺ als Stabilisatoren fungieren.¹⁵⁵ Sie wurden dem Reduktionsmittel (Ascorbinsäure) zugesetzt. Es stellte sich heraus, dass durch Gelatine als Stabilisator kugelförmige und homogen verteilte Ag-Nanopartikel produziert werden konnten. Dennoch entstanden auch bei der Verwendung der Stabilisatoren circa 100 nm große Ag-Nanopartikel-Agglomerate. Zudem sind die Ag-Nanopartikel verstärkt an der Oberfläche der BNC vorzufinden.¹⁵⁵

Die Entstehung von Nanopartikel-Agglomeraten und die Beschränkung der Modifizierung auf die Materialoberfläche stellt bei allen beschriebenen Methoden ein generelles Problem dar. Die hier untersuchte Methode führt zu keiner Verbesserung.

Jedoch verursacht die Abscheidung von Silber an selektiven Punkten der Oberfläche nahezu keine weitere Veränderung der molekularen Struktur. Die Kristallinität aller Ag-BNC-Hybride bleibt im Vergleich zu unmodifizierter BNC unverändert (Tab.19), da Polymerisation und Kristallisation während der Biosynthese abgeschlossen werden.^{5,6,11,28} Diese Beobachtung stimmt auch mit Untersuchungen von Regenerat-Cellulose-Filmen überein.¹³⁷ Die Beibehaltung der molekularen Architektur von BNC kann zudem durch die FT-IR-Spektren bestätigt werden (Abb.32). Sie zeigen, dass es sich um eine materialschonende Modifizierungstechnik handelt und nur wenige primäre OH-Gruppe der C6-Position modifiziert werden.⁹⁶ Die hohe Kristallinität, die von der *post*-Modifizierung unbeeinflusst bleibt (Tab.19), spricht zudem dafür, dass die Reaktivität reduziert ist. In der Literatur wird beschrieben, dass die Modifizierung von Cellulose mit Carbamaten bevorzugt in den amorphen Bereichen stattfindet.^{137,139} Demzufolge ist die Zugänglichkeit zu den OH-Gruppen durch die hohe Kristallinität von BNC erschwert, was zusätzlich eine Agglomerat-Entstehung fördert.¹³⁹

Trotz der Modifizierung auf molekularer Ebene bleibt das Porensystem, welches die supramolekulare Struktur kennzeichnet, nahezu unverändert. Dies korreliert mit der unverändert hohen Kristallinität. Tendenziell ist jedoch zu erkennen, dass das WAV und das WRV der Ag-BNC-Hybride unabhängig von der verwendeten AgNO₃-Konzentration leicht steigt bzw. sinkt (Tab.20). Diese Tendenz kann durch die Verwendung von DMSO während der *post*-Modifizierung erklärt werden. DMSO ist ein organisches

Lösungsmittel, in dem auch Cellulose geringfügig aufquillt (verstärkte Wasseraufnahme).¹⁶ Das Aufquellen tritt bevorzugt in den amorphen Bereichen auf.¹⁶ Durch die hohe Kristallinität von BNC ist dieser Effekt sehr gering und führt zu keiner Beeinflussung der Kristallisationsgrade. Des Weiteren ist das Aufquellen bei der Modifikation II stärker ausgeprägt als bei der Modifikation I.¹⁶ Die NMR-spektroskopischen Untersuchungen zeigten, dass in BNC Cellulose I vorzufinden ist (Abb.17 und Tab.7), sodass der Einfluss des gewählten Lösungsmittels (DMSO) auf die molekulare und supramolekulare Struktur von BNC nur tendenziell erkennbar ist.

Dennoch stellt die Verwendung von DMSO einen Vorteil dar, da es günstig, chemisch stabil, umweltfreundlicher und biologisch unbedenklicher als NaBH₄ oder *N,N*-Dimethyl-Formamid ist.^{89,92,141} Vor allem NaBH₄ ist toxisch, ätzend und leicht entzündlich. Es ist ein starkes Reduktionsmittel (Redoxpotential von -1,37 V),¹⁵⁶ was nachweislich zur Schädigung der nativen BNC-Struktur führen kann. Als Folge sinken Kristallinitätsgrad und Zugfestigkeit.^{35,50} Durch die materialschonendere Methode mit DMSO ist es deshalb möglich, die im Rahmen einer FWV-Anwendung erforderlichen Hydrogel-Eigenschaften der dreidimensionalen Netzwerkstruktur in fast ursprünglicher Form zu erhalten.

Die leichte Beeinflussung des WAV und des WRV spiegelt sich auch in den mechanischen Eigenschaften wider. Alle Ag-BNC-Hybride besitzen die gleiche Zugfestigkeit. Diese ist im Vergleich zu unmodifizierter BNC leicht verringert (Abb.37a). Die gleichen Zugfestigkeiten der Hybride können damit erklärt werden, dass alle Behandlungsschritte unter gleichen Bedingungen abgelaufen sind. Für alle Reaktionsschritte sind die verwendeten DMSO-Konzentrationen gleich. Lediglich die Konzentration der AgNO₃-Lösung wurde im Rahmen des letzten Modifizierungsschrittes variiert. Diese Veränderung hat jedoch keinen Einfluss auf die Zugfestigkeit.

5.3.2. Beeinflussung der Nanopartikel-Ausbildung

Durch die verwendete Modifizierungsmethode kann die Oberfläche von BNC funktionalisiert werden (Abb.42). Dabei kann die Menge der abgeschiedenen Nanopartikel kontrolliert werden. Eine Möglichkeit besteht in der Wahl der AgNO₃-Konzentration während des letzten Modifizierungsschrittes (Abb.33: III). Eine Konzentrationserhöhung führt zu größeren Flächenanteilen der Nanopartikel an der Ober- und Unterseite (Tab.21, Abb.34 und Abb.A8, Anhang). Diese Zunahme wird durch eine größere Anzahl von Nanopartikeln, durch das Wachstum der Nanopartikel und durch die Zusammenlagerung der Nanopartikel zu größeren Agglomeraten hervorgerufen (Abb.34).

Ein Grund kann in der Verwendung von DMSO liegen. Laut Literatur führen starke Reduktionsmittel zu kleinen Nanopartikeln, welche monodispers verteilt sind.⁹²

Hingegen entstehen durch schwächere Reduktionsmittel wie DMSO breitere Nanopartikel-Verteilungen. Begründet wird dies durch den langsameren Ablauf der Reduktion.⁹² In diesem Zusammenhang beschrieb Maneerung *et al.*, dass das Verhältnis von Reduktionsmittel zu AgNO_3 die Partikelgrößenverteilung bei der Reduktion von Ag-Nanopartikeln beeinflusst.⁹⁵ Es wurde festgestellt, dass bei einem molaren NaBH_4 : AgNO_3 -Verhältnis von 1:1 relativ große und ungleichmäßig verteilte Ag-Nanopartikel entstehen. Mit steigender Konzentration des Reduktionsmittels (molares Verhältnis 100:1) sinkt die Partikelgröße und die Verteilung wird homogener. Dies legt nahe, dass das Verhältnis durch die Erhöhung der AgNO_3 -Konzentration reduziert wird und breitere Größenverteilungen auftreten.

Ursache ist der Überschuss von Silber-Ionen während des Reduktionsschrittes. Anstelle einer Nukleation tritt bevorzugt Partikelwachstum auf, sodass größere Nanopartikel-Agglomerate entstehen. Der Effekt wird durch das ausgeprägte System von intra- und intermolekularen Wasserstoffbrückenbindungen, welches die Zugänglichkeit zu den Hydroxy-Gruppen erschwert, gefördert. Ähnliche Erklärungen wurden auch in der Literatur beschrieben.^{50,95} Neu reduzierte Ag-Nanopartikel entstehen bevorzugt an Ag-Nanopartikeln, welche bereits an der Cellulose-Faser abgeschieden sind. Dieser Effekt tritt solange auf, bis der Großteil der Silber-Ionen reduziert wurde. Demzufolge lässt sich die gehäufte Agglomeration der Ag-Nanopartikel bei den Hybriden Ag10 und Ag20 erklären. Im Gegensatz dazu stehen die homogenen Verteilungen der Proben Ag2.5 und Ag5, welche durch ein größeres Verhältnis von DMSO : AgNO_3 charakterisiert sind. Diese entstehen bevorzugt, weil das Reduktionsmittel DMSO genügend Elektronen zur Reduktion der Silber-Ionen zur Verfügung stellen kann.

Im Rahmen des letzten Reaktionsschrittes beeinflusst außerdem die Reaktionszeit der Proben in der AgNO_3 -Lösung die Menge der abgeschiedenen Nanopartikel (Abb.33: III). Eine verlängerte Reaktionszeit erhöht die Wahrscheinlichkeit, dass mehr Silber an den zur Verfügung stehenden funktionalisierten Seitengruppen der BNC abgeschieden werden kann (Abb.33: III). Dadurch ruft eine verlängerte Reaktionsdauer eine stetige Zunahme der prozentualen Flächenanteile der Ag-Nanopartikel hervor.

Der Unterschied des Ag-Gehalts an der Ober- und Unterseite ist vergleichbar mit den Ergebnissen, welche für die Ag-BNC-Hybride mit unterschiedlichen AgNO_3 -Konzentrationen ermittelt wurden. Bei diesen hat die anisotrope BNC-Struktur nahezu keinen Einfluss auf die Ag-Nanopartikel-Verteilung. Dennoch kann keine Modifizierung in der mittleren Schicht erzielt werden.

Durch die Zunahme der Reaktionszeit steigt die Agglomerat-Größe deutlich an. Diese übersteigt die der höchsten AgNO_3 -Konzentration (Ag20) deutlich (Tab.22). Die Zunahme der Größe auf bis zu 5 μm große Agglomerate beruht auf den zur Verfügung stehenden Hydroxy-Gruppen der BNC-Fasern. Demzufolge wird mit zunehmender Reaktionszeit immer mehr Silber an den vorhandenen Nanopartikeln abgeschieden.

Das verursacht die Größenzunahme der Ag-Nanopartikel bzw. das Zusammenlagern verschiedener Ag-Nanopartikel. Des Weiteren fällt auf, dass der Anstieg von 2 auf 3 Stunden nicht mehr so signifikant ausfällt (Tab.22, Abb.36 und Abb.A9, Anhang). Dies kann durch den zeitlichen Verbrauch der Silber-Ionen erklärt werden.

5.3.3. Antimikrobielle Eigenschaften der Ag-BNC-Hybride

Die Untersuchungen zeigten, dass bereits geringe AgNO₃-Konzentrationen ausreichen, um einen Hybrid mit starker AMA herzustellen. Im Rahmen der CFU-Tests (Abb.38) und der BTG-Tests (Tab.24 und Abb.A21b, Anhang) inaktiviert der BNC-Hybrid Ag5 nach dem direkten Kontakt alle im Test verwendeten *E. coli*-Bakterien ($7 \cdot 10^5$ CFU/ml). Generell wird eine niedrige AMA durch eine 1-log-Reduktion, eine mittlere AMA durch eine 1- bis 3-log-Reduktion und eine hohe AMA durch eine Reduktion höher als 3-log definiert.¹⁵⁷ Die bestimmte 5-log-Reduktion der *E. coli*-Bakterien ($7 \cdot 10^5$ CFU/ml) repräsentiert demzufolge eine hohe antimikrobielle Aktivität.

Im Gegensatz dazu führen die untersuchten Oberflächen von unmodifizierter BNC zu einer Vermehrung der Bakterienpopulation, welche auf die ungestörten Wachstumsbedingungen auf Cellulose-Oberflächen zurückzuführen sind (Abb.38 Tab.24).⁵⁸ Es zeigt, dass BNC keine eigenständige Barriere gegen eine Bakterienvermehrung besitzt.³⁵ Die *post*-Modifizierung mit antimikrobiell wirksamen Silber-Nanopartikeln erweitert somit die Eigenschaften und das Anwendungspotential von BNC.

Die antimikrobielle Aktivität der Nanopartikel im direkten Kontakt stellt eine potentiell auftretende Wirkweise der Ag-BNC-Hybride gegenüber der verwendeten *E. coli*-Bakterien dar (Abb.6: C, J und K). Diese ist unabhängig von der untersuchten Oberfläche und beruht auf den nahezu gleichen Flächenanteilen der Ag-Nanopartikel an den beiden Oberflächenbereichen.

Die Ergebnisse des Agar-Diffusionstests (Abb.39) bestätigen dies. Unter den gewählten, normgerechten Testbedingungen werden keine Nanopartikel oder Ag-Ionen freigesetzt (Abb.6: A, D und E), sodass sich kein Hemmhof um den Ag-BNC-Hybrid bildet. Das bedeutet, dass die Ag-Nanopartikel an der Hybrid-Oberfläche immobilisiert sind. Die Nanopartikel werden, wie von Ferraria *et al.* beschrieben, selektiv und direkt an den Amino-Funktionalitäten der BNC-Fasern abgeschieden.⁹⁶ Demzufolge bleibt deren Graufärbung auch bei 5-fachem Lösungsmittelwechsel erhalten (Abb.A21a, Anhang).

Die Abwesenheit eines Hemmhofes zeigt weiterhin, dass keine Imidazol-Reste im hergestellten Ag-BNC-Hybrid vorhanden sind. In der Literatur wird von einer Vielzahl von Imidazol-Ester-Derivaten berichtet, die eine aktive AMA zeigen und somit zur Ausbildung eines Hemmhofes geführt hätten.^{158,159} Das bestätigt ebenfalls die erfolgreiche Übertragung der dreistufigen Modifizierungstechnik.

Die hier verwendete *post*-Methode nutzt die große Anzahl von Hydroxy-Gruppen aus (Abb.1).^{56,89} Das stellt im Vergleich zu bereits existierenden Modifizierungsverfahren keinen Unterschied dar.^{47,56,89,92,95} Jedoch erfolgt bei diesen keine vorherige Aktivierung der BNC. Viele Untersuchungen basieren lediglich auf der Verwendung eines löslichen Silbersalzes (z.B. Silbernitrat). Die in Lösung befindlichen Silber-Ionen lagern sich elektrostatisch an die Hydroxy-Gruppen an und werden anschließend durch weitere Reaktionsschritte reduziert.^{47,56,89,92,95} Dadurch sind die Nanopartikel jedoch nicht immobilisiert.^{56,89,95} Die Nanopartikel können freigesetzt werden. Dies wurde von Maneerung *et al.* besonders bei geringen NaBH₄-Konzentrationen beobachtet, da hier nur die Oberfläche der BNC modifiziert wurde.⁹⁵ Zudem beschrieben Sureshkumar *et al.* einen mit Ag-Nanopartikeln imprägnierten BNC-Hybrid, welcher durch mehrfaches Eintauchen in AgNO₃ synthetisiert wurde. Dieser Hybrid besaß eine reduzierte AMA nach einer 6-fachen Wiederholung des antimikrobiellen Tests.⁵⁶ Der Rückgang wurde auf den Verlust von Ag-Nanopartikeln während der Inkubation in der Bakterien-Suspension zurückgeführt. Das zeigt die beschränkte Anwendbarkeit dieser Methoden. Aus diesem Grund stellt die hier angewendete Methode eine verbesserte Möglichkeit dar, die Ag-Nanopartikel durch die vorherige Funktionalisierung von BNC chemisch zu immobilisieren (Abb.33). Dadurch werden keine Nanopartikel unkontrolliert in die Umgebung freigesetzt, sodass die antimikrobielle Wirkung lokal begrenzt. Darüber hinaus kann so eine effektivere Einsatzdauer gewährleistet werden.¹³⁸

Die antimikrobielle Aktivierung von BNC stellt zwar nur die Übertragung eines für Regenerat-Cellulose beschriebenen Verfahrens dar. Jedoch ist ein zweidimensionaler Cellulose-Film für den Einsatz als FWV ungeeignet. Denn dieser besitzt weder den vorteilhaften Hydrogelcharakter, der ein feuchtes Wundmilieu erzeugt, noch eine geeignete supramolekulare Struktur um Exsudate aufnehmen zu können (hohes WAV und WRV). In diesem Hinblick zeichnet sich BNC vor allem durch die Fähigkeit aus, große Wassermengen in das nanostrukturierte Netzwerk aufzunehmen (Abb.15: hohes WAV) und zurückzuhalten (Abb.11b: hohes WRV). Dadurch kann bei der Anwendung von teildehydrierter BNC eine große Exsudat-Menge aufgenommen und gleichzeitig ein feuchtes Wundmilieu aufrechterhalten werden.^{35,61,95} Die feuchte Wundumgebung begünstigt die Zellproliferation (z.B. Fibroblasten oder Keratinozyten),^{35,160} wodurch ein schnellerer Wundverschluss (Epithelisierung), eine Schmerzreduktion und seltenere Verbandswechsel (Kosten) erzielt werden können.^{35,95,160,161}

Aus diesem Grund stellt die Übertragung der Methode auf die dreidimensionale Struktur von BNC eine interessante Möglichkeit dar, die positiven Eigenschaften von BNC mit denen von Silber im Rahmen eines FWV zu kombinieren. Die Eigenschaften von Silber sind dabei unerlässlich, da BNC von Natur aus keine AMA und damit keine eigenständige Barriere gegen eine Wundinfektion besitzt.³⁵ Diese Anforderung ist jedoch für eine moderne Wundaufgabe sehr wichtig, da das vorteilhafte feuchte

Wundumfeld zu einer unerwünschten Bakterienvermehrung führen kann.^{35,47} Die Koloniebildung fördert die Formation eines Biofilms, welcher die Bakterien vor dem Immunsystem des Wirtes und gegen die verwendeten Antibiotika schützt.⁹⁰ Eine aggressivere Behandlung mit anderen Antibiotika wäre so erforderlich.⁹¹

Aus diesem Grund ist eine lokale AMA durch breit wirksames Silber von großem Interesse.⁹¹ Zudem stellt es einen Vorteil gegenüber der Beladung mit Antiseptika dar, vor allem in Hinblick auf verstärkt auftretende Antibiotikaresistenzen von pathogenen grampositiven und -negativen Bakterienarten (z.B. Arten *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Salmonella typhi* oder *E. coli*).^{35,47,50,94,97} Darüber hinaus kann die Anwendung von Antibiotika zu deren Anreicherung im Körper führen. Damit können schädigende Einflüsse auf gesunde Zellen (z.B. Erbgutschädigung) verbunden sein, die bisher noch nicht hinreichend widerlegt sind.⁹¹

Trotz der starken antimikrobiellen Wirkung der Ag-BNC-Hybride sollte Vorsicht bei deren Verwendung geboten sein. Denn viele fundamentale Aussagen zur Toxizität von Silber können von niederen Organismen auch auf höhere übertragen werden, obwohl eukaryotische und prokaryotische Zellen in vielerlei Hinsicht verschieden sind.⁹² So sind beispielsweise die innere Membran der Mitochondrien und die prokaryotische Zellmembran strukturell sehr ähnlich. Atmung tritt auch bei Mitochondrien der Eukaryoten auf.⁹² Zudem sollten auch Nanotoxizität, Zytotoxizität und Genotoxizität berücksichtigt werden.^{91,92} Beispielweise ist Argyrie als toxischer Effekt beim Menschen bekannt.⁹¹ Ein weiteres Problem bei der Verwendung von antimikrobiell wirksamen Ag-BNC-Hybriden könnten auch auftretende Ag-Resistenzen darstellen (z.B. *E. coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii* oder *Salmonella enterica*).^{91,92,98}

6. Zusammenfassung

Ein Ziel dieser Arbeit bestand darin, das Anwendungspotential von BNC durch ausgewählte *in situ*- und *post*-Modifizierungstechniken zu erweitern.

Im Rahmen der *in situ*-Modifizierung wurde der Einfluss des zur Synthese verwendeten *Gluconacetobacter*-Stamms auf die chemisch-mechanischen Eigenschaften von bakteriell synthetisierter Nanocellulose (BNC) untersucht. Durch die Wahl des Bakterienstamms besteht die Möglichkeit, den molekularen und supramolekularen Aufbau von BNC gezielt zu steuern und die darauf aufbauenden mechanischen Materialeigenschaften zu modifizieren. Darüberhinaus bildet das gewonnene Materialverständnis die Grundlage, um den Einfluss der jeweiligen Modifizierungstechnik auf die Materialeigenschaften abzuschätzen und verfahrensbedingte Probleme zu bewerten.

Als weitere *in situ*-Modifizierungstechnik wurde eine neue Methode entwickelt, um ein nanofibrilläres Hybridmaterial herzustellen, welches aus BNC und photokatalytisch aktiven Anatas-Nanopartikeln besteht. Die während der Biosynthese entstehende BNC fungiert als Trägerstruktur und immobilisiert die Nanopartikel im Netzwerk. Die Gegenwart der Nanopartikel im Kultivierungsmedium beeinflusst die Netzwerkbildung. Die Anatas-Nanopartikel, die im kompletten Material zu finden sind, modifizieren durch die Wechselwirkung mit den Hydroxy-Gruppen der BNC-Fibrillen die entstehende molekulare und supramolekulare Struktur des Hybrids. Im Vergleich zu bisherigen Modifizierungstechniken sind keine Nachbehandlungsschritte erforderlich, um einen photokatalytischen BNC-Hybrid zu synthetisieren. Darüber hinaus bleibt der Hydrogelcharakter des Materials erhalten, der im Rahmen eines photokatalytischen Schadstoffabbaus von Vorteil ist. Die photokatalytische Aktivität der Hybride wird von der verwendeten Anatas-Konzentration beeinflusst. Demzufolge könnten die photokatalytisch aktiven und stabilen BNC-TiO₂-Hybride im Rahmen umwelttechnischer Anwendungen, zur Trinkwasser- oder Luftreinigung verwendet werden.

Im Rahmen der *post*-Modifizierung wurden Hybride auf Basis von BNC und Ag-Nanopartikeln durch eine dreistufige Methode hergestellt. Die Ag-Nanopartikel entstehen selektiv an den aktivierten Stellen der dreidimensionalen BNC-Struktur. Sie sind an den Amino-Funktionalitäten der vorbehandelten BNC-Fasern fest immobilisiert. Die Menge und Größe der Ag-Nanopartikel kann durch die Variation der verwendeten AgNO₃-Konzentration sowie durch die Reaktionszeit der Proben in der AgNO₃-Lösung kontrolliert werden. Die Hybride besitzen bereits bei geringen Ag-Nanopartikel-Gehalten eine hohe antimikrobielle Aktivität, die nur im direkten Kontakt mit *E. coli*-Bakterien wirkt. Dabei werden keine Nanopartikel freigesetzt, sodass die Wirkung lokal begrenzt werden kann. Die Hybride könnten deshalb von großem Interesse für eine medizinische

Anwendung als antimikrobieller Feuchtwundverband sein, da sie die Materialvorteile von BNC mit den erforderlichen antimikrobiellen Eigenschaften von Ag-Nanopartikeln kombinieren.

Die verwendeten Modifizierungstechniken sind für die Eigenschaftserweiterung von BNC nicht beschränkt und bieten eine Vielzahl von weiteren Ansatzpunkten. So besteht im Rahmen der entwickelten *in situ*-Technik die Möglichkeit, andere funktionalisierte Nanopartikel zu verwenden, um die BNC-Eigenschaften gezielt zu erweitern. Es ist denkbar, bioaktive Nanopartikel für neuartige Trägerstrukturen bei der Knochenregeneration oder paramagnetische Nanopartikel für magnetische Filter in die BNC-Trägerstruktur zu integrieren. Aber auch im Hinblick auf die verwendete *post*-Modifizierungstechnik ergeben sich Ansatzpunkte. Die Abscheidung anderer metallischer Nanopartikel kann für die Herstellung von H_2O_2 -Biosensoren (Au) oder Protonen-Austausch-Membranen (Pt) verwendet werden. Darüber hinaus können anorganische Materialien wie CdSe als lumineszierender Sensor oder CdS als Photokatalysator in Betracht gezogen werden.

Literaturverzeichnis

- 1 D. Klemm, F. Kramer, S. Moritz, T. Lindström, M. Ankerfors, D. Gray und A. Dorris: Nanocelluloses: A New Family of Nature-Based Materials, *Angew. Chem. Int. Ed.* **50** [24] (2011), 5438-5466.
- 2 K. Kamide: Cellulose and Cellulose Derivatives: Molecular Characterization and its Applications, *Elsevier GmbH*, München, 1. Auflage (2005).
- 3 D. Klemm, H.-P. Schmauder und T. Heinze: Cellulose, *BIOPOLYMERS* **6** [Polysaccharides II: Polysaccharides from Eukaryotes] (2002), 275-319, *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, Weinheim (2002).
- 4 R.M. Brown Jr.: Cellulose Structure and Biosynthesis: What is in Store for the 21st Century?, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **42** [3] (2004), 487-495.
- 5 P. Ross, R. Mayer und M. Benziman: Cellulose Biosynthesis and Function in Bacteria, *Microbiol. Rev.* **55** [1] (1991), 35-58.
- 6 R.E. Cannon und S.M. Anderson: Biogenesis of Bacterial Cellulose, *Crit. Rev. Microbiol.* **17** [6] (1991), 435-447.
- 7 R.M. Brown Jr. und I.M. Saxena: Cellulose: Molecular and Structural Biology - Selected Articles on the Synthesis, Structure, and Applications of Cellulose, *Springer-Verlag GmbH*, Heidelberg, 1. Auflage (2007).
- 8 P. Chen, S.Y. Cho und H.-J. Jin: Modification and Applications of Bacterial Celluloses in Polymer Science, *Macromol. Res.* **18** [4] (2010), 309-320.
- 9 A. Payen A: Mémoire sur la composition du tissu propre des plantes et du ligneux, *C.R. Hebd. Seances Acad. Sci.* **7** (1838), 1052-1056.
- 10 D. Klemm, B. Heublein, H.-P. Fink und A. Bohn: Cellulose: Fascinating Biopolymer and Sustainable Raw Material, *Angew. Chem. Int. Ed.* **44** [22] (2005), 3358-3393.
- 11 B.H.A. Rehm: Microbial Production of Biopolymers and Polymer Precursors: Applications and Perspectives, *Caister Academic Press*, Norfolk, 1. Auflage (2009).
- 12 A.J. Brown: XLIII. - On an Acetic Ferment which form Cellulose, *J. Chem. Soc. Trans.* **49** [0] (1886), 432-439.
- 13 S. Bielecki, A. Krystynowicz, M. Turkiewicz und H. Kalinowska: Bacterial Cellulose, *BIOPOLYMERS* **5** [Polysaccharides I: Polysaccharides from Prokaryotes] (2002), 37-90, *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, Weinheim (2002).
- 14 C.H. Haigler und P.J. Weimer: Biosynthesis and Biodegradation of Cellulose, *CRC Press*, Boca Raton, 1. Auflage (1990).
- 15 P. Gatenholm und D. Klemm: Bacterial Nanocellulose as a Renewable Material for Biomedical Applications: *MRS Bull.* **35** [3] (2010), 208-213.
- 16 D. Klemm, B. Philipp, T. Heinze, U. Heinze und W. Wagenknecht: Comprehensive Cellulose Chemistry Volume 1: Fundamentals and Analytical Methods, *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, Weinheim (1998).

- 17 D. Kralisch, N. Hessler, D. Klemm, R. Erdmann und W. Schmidt: White Biotechnology for Cellulose Manufacturing - The HoLiR concept, *Biotechnol. Bioeng.* **105** [4] (2010), 740-747.
- 18 D. Klemm, D. Schumann, F. Kramer, N. Heßler, D. Koth und B. Sultanova: Nanocellulose Materials - Different Cellulose, Different Functionality, *Macromol. Symp.* **280** [1] (2009), 60-71.
- 19 M.-P. G. Laborie: Bacterial Cellulose and Its Polymeric Nanocomposites, The Nanoscience and Technology of Renewable Biomaterials, *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, Weinheim, 1. Auflage (2009).
- 20 S. Salmon und S.M. Hudson: Crystal Morphology, Biosynthesis, and Physical Assembly of Cellulose, Chitin, and Chitosan, *J. Macromol. Sci., Polym. Rev.* **37** [2] (1997), 199-276.
- 21 R.H. Marchessault und C.Y. Liang: Infrared Spectra of Crystalline Polysaccharides. III. Mercerized Cellulose, *J. Polym. Sci., Part B: Polym. Phys.* **43** [141] (1960), 71-84.
- 22 U. Sternberg, F.-T. Koch, W. Prieß und R. Witter: Crystal structure refinements of cellulose polymorphs using solid state ^{13}C chemical shifts, *Cellulose* **10** [3] (2003), 189-199.
- 23 D.N.-S. Hon und N. Shiraishi: Wood and Cellulosic Chemistry, *CRC Press*, Boca Raton, 2. Auflage (1990).
- 24 P.R. Chawla, I.B. Bajaj, S.A. Survase und R.S. Singhal: Microbial Cellulose: Fermentative Production and Applications, *Food Technol. Biotechnol.* **47** [2] (2009), 107-124.
- 25 N. Heßler und D. Klemm: Alteration of bacterial nanocellulose structure by *in situ* modification using polyethylene glycol and carbohydrate additives, *Cellulose* **16** [5] (2009), 899-910.
- 26 R.M. Brown, J.H. Willison und C.L. Richardson: Cellulose biosynthesis in *Acetobacter xylinum*: Visualization of the site of synthesis and direct measurement of the *in vivo* process, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **73** [12] (1976), 4565-4569.
- 27 S. Koizumi, Z. Yue, Y. Tomita, T. Kondo, H. Iwase, D. Yamaguchi und T. Hashimoto: Bacterium organizes hierarchical amorphous structure in microbial cellulose, *Eur. Phys. J. E* **26** [1-2] (2008), 137-142.
- 28 H.-P. Fink, H.J. Purz, A. Bohn und J. Kunze: Investigation of the supramolecular structure of never dried bacterial cellulose, *Macromol. Symp.* **120** [1] (1997), 207-217.
- 29 S. Hestrin und M. Schramm: Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. 2. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose, *Biochem. J.* **58** [2] (1954), 345-352.
- 30 D. Klemm, D. Schumann, U. Udhardt und S. Marsch: Bacterial synthesized cellulose - artificial blood vessels for microsurgery, *Prog. Polym. Sci.* **26** [9] (2001), 1561-1603.
- 31 C. Wiegand und D. Klemm: Influence of protective agents for preservation of *Gluconacetobacter xylinus* on its cellulose production, *Cellulose* **13** [4] (2006), 485-492.
- 32 M. Hornung, M. Ludwig, A.M. Gerrard und H.-P. Schmauder: Optimizing the Production of Bacterial Cellulose in Surface Culture: Evaluation of Substrate Mass Transfer Influences on the Bioreaction (Part 1), *Eng. Life Sci.* **6** [6] (2006), 537-545.
- 33 K.-C. Cheng, J.M. Catchmark und A. Demirci: Enhanced production of bacterial cellulose by using a biofilm reactor and its material property analysis, *J. Biol. Eng.* **3** [12] (2009), 3-12.

- 34 S. Hesse-Ertelt, T. Heinze, E. Togawa und T. Kondo: Structure elucidation of uniformly ^{13}C -labeled bacterial celluloses from different *Gluconacetobacter xylinus* strains, *Cellulose* **17** [1] (2010), 139-151.
- 35 R. Jung, Y. Kim, H.-S. Kim und H.-J. Jin: Antimicrobial properties of hydrated cellulose membranes with silver nanoparticles, *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.* **20** [3] (2009), 311-324.
- 36 H. Yano und S. Nakahara: Bio-composites produced from plant microfiber bundles with a nanometer unit web-like network, *J. Mater. Sci.* **39** [5] (2004), 1635-1638.
- 37 O. Ishida, D.-Y. Kim, S. Kuga, Y. Nishiyama und R.M. Brown Jr.: Microfibrillar carbon from native cellulose, *Cellulose* **11** [3-4] (2004), 475-480.
- 38 Y. Hagiwara, A. Putra, A. Kakugo, H. Furukawa und J.P. Gong: Ligament-like tough double-network hydrogel based on bacterial cellulose, *Cellulose* **17** [1] (2010), 93-101.
- 39 J. George, K.V. Ramana, S.N. Sabapathy und A.S. Bawa: Physico-mechanical properties of chemically treated bacterial (*Acetobacter xylinum*) cellulose membrane, *World J. Microbiol. Biotechnol.* **21** [8-9] (2005), 1323-1327.
- 40 B.A. McKenna, D. Mikkelsen, J.B. Wehr, M.J. Gidley und N.W. Menzies: Mechanical and structural properties of native and alkali-treated bacterial cellulose produced by *Gluconacetobacter xylinus* strain ATCC 53524, *Cellulose* **16** [6] (2009), 1047-1055.
- 41 M. Frensemeier, C. Koplin, R. Jaeger, F. Kramer und D. Klemm: Mechanical Properties of Bacterially Synthesized Nanocellulose Hydrogels, *Macromol. Symp.* **294** [2] (2010), 38-44.
- 42 G. Guhados, W. Wan und J.L. Hutter: Measurement of the elastic modulus of single bacterial cellulose fibers using atomic force microscopy, *Langmuir* **21** [14] (2005), 6642-6646.
- 43 W.D. Callister Jr.: Fundamentals of Materials Science and Engineering, *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, Weinheim, 5. Auflage (2001).
- 44 N.P. Cheremisinoff: Handbook of engineering polymeric materials, *Marcel Dekker Inc.*, New York, 1. Auflage (1997).
- 45 S.J. Eichhorn, A. Dufresne, M. Aranguren, N.E. Marcovich, J.R. Capadona, S.J. Rowan, C. Weder, W. Thielemans, M. Roman, S. Renneckar, W. Gindl, S. Veigel, J. Keckes, H. Yano, K. Abe, M. Nogi, A.N. Nakagaito, A. Mangalam, J. Simonsen, A.S. Benight, A. Bismarck, L.A. Berglund und T. Peijs: Review: current international research into cellulose nanofibres and nanocomposites, *J. Mater. Sci.* **45** [1] (2010), 1-33.
- 46 H. Yano, J. Sugiyama, A.N. Nakagaito, M. Nogi, T. Matsuura, M. Hikita und K. Handa: Optically Transparent Composites Reinforced with Networks of Bacterial Nanofibers, *Adv. Mater.* **17** [2] (2005), 153-155.
- 47 G. Yang, J. Xie, F. Hong, Z. Cao und X. Yang: Antimicrobial activity of silver nanoparticle impregnated bacterial cellulose membrane: Effect of fermentation carbon sources of bacterial cellulose, *Carbohydr. Polym.* **87** [1] (2012), 839-845.
- 48 W. Czaja, A. Krystynowicz, S. Bielecki und R.M. Brown Jr.: Microbial cellulose - the natural power to heal wounds, *Biomaterials* **27** [2] (2006), 145-151.

- 49 P.A.A.P. Marques, H.I.S. Nogueira, R.J.B. Pinto, C. Pascoal Neto und T. Trindade: Silver-bacterial cellulosic sponges as active SERS substrates, *J. Raman Spectrosc.* **39** [January] (2008), 439-443.
- 50 H.S. Barud, T. Regiani, R.F.C. Marques, W.R. Lustri, Y. Messaddeq und S.J.L. Ribeiro: Antimicrobial Bacterial Cellulose-Silver Nanoparticles Composite Membranes, *J. Nanomater.* **2011** (2011), 1-8.
- 51 A. Svensson, E. Nicklasson, T. Harrah, B. Panilaitis, D.L. Kaplan, M. Brittberg und P. Gatenholm: Bacterial cellulose as a potential scaffold for tissue engineering of cartilage, *Biomaterials* **26** [4] (2005), 419-431.
- 52 C.R. Rambo, D.O.S. Recouvreux, C.A. Carminatti, A.K. Pitlovanciv, R.V. Antônio und L.M. Porto: Template assisted synthesis of porous nanofibrous cellulose membranes for tissue engineering, *Mater. Sci. Eng., C* **28** [4] (2008), 549-554.
- 53 A. Müller, Z. Ni, N. Hessler, F. Wesarg, F.A. Müller, D. Kralisch und D. Fischer: The Biopolymer Bacterial Nanocellulose as Drug Delivery System: Investigation of Drug Loading and Release using the Model Protein Albumin, *J. Pharm. Sci.* (2012), DOI: 10.1002/jps.23385.
- 54 T. Zhang, W. Wang, D. Zhang, X. Zhang, Y. Ma, Y. Zhou und L. Qi: Biotemplated Synthesis of Gold Nanoparticle - Bacteria Cellulose Nanofiber Nanocomposites and Their Application in Biosensing, *Adv. Funct. Mater.* **20** [7] (2010), 1152-1160.
- 55 Z. Yang, S. Chen, W. Hu, N. Yin, W. Zhang, C. Xiang und H. Wang: Flexible luminescent CdSe/bacterial cellulose nanocomposite membranes, *Carbohydr. Polym.* **88** [1] (2012), 173-178.
- 56 M. Sureshkumar, D.Y. Siswanto und C.-K. Lee: Magnetic antimicrobial nanocomposite based on bacterial cellulose and silver nanoparticles, *J. Mater. Chem.* **20** [33] (2010), 6948-6955.
- 57 J. Yang, D. Sun, J. Li, X. Yang, J. Yu, Q. Hao, W. Liu, J. Liu, Z. Zou und J. Gu: *In situ* deposition of platinum nanoparticles on bacterial cellulose membranes and evaluation of PEM fuel cell performance, *Electrochim. Acta* **54** [26] (2009), 6300-6305.
- 58 W.A. Daoud, J.H. Xin und Y.-H. Zhang: Surface functionalization of cellulose fibers with titanium dioxide nanoparticles and their combined bactericidal activities, *Surf. Sci.* **599** [1-3] (2005), 69-75.
- 59 D. Sun, J. Yang und X. Wang: Bacterial cellulose/TiO₂ hybrid nanofibers prepared by the surface hydrolysis method with molecular precision, *Nanoscale* **2** [2] (2010), 287-292.
- 60 X. Li, S. Chen, W. Hu, S. Shi, W. Shen, X. Zhang und H. Wang: *In situ* synthesis of CdS nanoparticles on bacterial cellulose nanofibers, *Carbohydr. Polym.* **76** [4] (2009), 509-512.
- 61 W.K. Czaja, D.J. Young, M. Kawecki und R.M. Brown Jr.: The Future Prospects of Microbial Cellulose in Biomedical Applications, *Biomacromolecules* **8** [1] (2007), 1-12.
- 62 M. Ul-Islam, T. Khan und J.-K. Park: Water holding and release properties of bacterial cellulose obtained by in situ and ex situ modification, *Carbohydr. Polym.* **88** [2] (2012), 596-603.
- 63 H.-C. Huang, L.-C. Chen, S.-B. Lin, C.-P. Hsu und H.-H. Chen: *In situ* modification of bacterial cellulose network structure by adding interfering substances during fermentation, *Bioresour. Technol.* **101** [15] (2010), 6084-6091.

- 64 G. Serafica, R. Mormino und H. Bungay: Inclusion of solid particles in bacterial cellulose, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **58** [6] (2002), 756-760.
- 65 S. Yano, H. Maeda, M. Nakajima, T. Hagiwara und T. Sawaguchi: Preparation and mechanical properties of bacterial cellulose nanocomposites loaded with silica nanoparticles, *Cellulose* **15** [1] (2008), 111-120.
- 66 Z. Yan, S. Chen, H. Wang, B. Wang, C. Wang und J. Jiang: Cellulose synthesized by *Acetobacter xylinum* in the presence of multi-walled carbon nanotubes, *Carbohydr. Res.* **343** [1] (2008), 73-80.
- 67 C.J. Grande, F.G. Torres, C.M. Gomez und M.C. Bañó: Nanocomposites of bacterial cellulose/hydroxyapatite for biomedical applications, *Acta Biomater.* **5** [5] (2009), 1605-1615.
- 68 F. Kramer, D. Klemm, D. Schumann, N. Heßler, F. Wesarg, W. Fried und D. Stadermann: Nanocellulose Polymer Composites as Innovative Pool for (Bio)Material Development, *Macromol. Symp.* **244** [1] (2006), 136-148.
- 69 A. Nakayama, A. Kakugo, J.P. Gong, Y. Osada, M. Takai, T. Erata und S. Kawano: High Mechanical Strength Double-Network Hydrogel with Bacterial Cellulose, *Adv. Funct. Mater.* **14** [11] (2004), 1124-1128.
- 70 C. Legnani, C. Vilani, V.L. Calil, H.S. Barud, W.G. Quirino, C.A. Achete, S.J.L. Ribeiro und M. Cremona: Bacterial cellulose membrane as flexible substrate for organic light emitting devices, *Thin Solid Films* **517** [3] (2008), 1016-1020.
- 71 S.H. Yoon, H.-J. Jin, M.-C. Kook und Y.R. Pyun: Electrically Conductive Bacterial Cellulose by Incorporation of Carbon Nanotubes, *Biomacromolecules* **7** [4] (2006), 1280-1284.
- 72 R. Jung, H.-S. Kim, Y. Kim, S.-M. Kwon, H.S. Lee und H.-J. Jin: Electrically Conductive Transparent Papers Using Multiwalled Carbon Nanotubes, *J. Polym. Sci., Part B: Polym. Phys.* **46** [12] (2008), 1235-1242.
- 73 M. Martin, B. Evans, H. O'Neill und J. Woodward: Laser-induced breakdown spectroscopy used to detect palladium and silver metal dispersed in bacterial cellulose membranes, *Appl. Opt.* **42** [30] (2003), 6174-6178.
- 74 S. Vitta, M. Drillon und A. Derory: Magnetically responsive bacterial cellulose: Synthesis and magnetic studies, *J. Appl. Phys.* **108** [5] (2010), 053905.1-053905.7.
- 75 C. Katepetch und R. Rujiravanit: Synthesis of magnetic nanoparticle into bacterial cellulose matrix by ammonia gas-enhancing in situ co-precipitation method, *Carbohydr. Polym.* **86** [1] (2011), 162-170.
- 76 W. Zhang, S. Chen, W. Hu, B. Zhou, Z. Yang, N. Yin und H. Wang: Facile fabrication of flexible magnetic nanohybrid membrane with amphiphobic surface based on bacterial cellulose, *Carbohydr. Polym.* **86** [4] (2011), 1760-1767.
- 77 I.F. Nata, M. Sureshkumar und C.-K. Lee: One-pot preparation of amine-rich magnetite/bacterial cellulose nanocomposite and its application for arsenate removal, *RSC Adv.* **1** [4] (2011), 625-631.
- 78 D. Zhang und L. Qi: Synthesis of mesoporous titania networks consisting of anatase nanowires by templating of bacterial cellulose membranes, *Chem. Commun.* **21** (2005), 2735-2737.

- 79 L. Palmisano und A. Sclafani: Thermodynamics and Kinetics for Heterogeneous Photocatalytic Processes, *Heterogeneous Photocatalysis* (1997), 109-132, John Wiley & Sons Ltd., Chichester (1997).
- 80 A.L. Linsebigler, G. Lu und J.T. Yates Jr.: Photocatalysis on TiO₂ Surfaces: Principles, Mechanisms, and Selected Results, *Chem. Rev.* **95** [3] (1995), 735-758.
- 81 N. Serpone und A.V. Emeline: Suggested terms and definitions in photocatalysis and radiocatalysis, *Int. J. Photoenergy* **4** [3] (2002), 91-131.
- 82 A. Fujishima, X. Zhang und D.A. Tryk: TiO₂ photocatalysis and related surface phenomena, *Surf. Sci. Rep.* **63** [12] (2008), 515-582.
- 83 J.-M. Herrmann: Heterogeneous photocatalysis: fundamentals and applications to the removal of various types of aqueous pollutants, *Catal. Today* **53** [1] (1999), 115-129.
- 84 S. Linic, P. Christopher und D.B. Ingram: Plasmonic-metal nanostructures for efficient conversion of solar to chemical energy, *Nat. Mater.* **10** [12] (2011), 911-921.
- 85 U.I. Gaya und A.H. Abdullah: Heterogeneous photocatalytic degradation of organic contaminants over titanium dioxide: A review of fundamentals, progress and problems, *J. Photochem. Photobiol., C* **9** [1] (2008), 1-12.
- 86 M.A. Henderson: A surface science perspective on TiO₂ photocatalysis, *Surf. Sci. Rep.* **66** [6-7] (2011), 185-297.
- 87 M.A. Fox und M.T. Dulay: Heterogeneous Photocatalysis, *Chem. Rev.* **93** [1] (1993), 341-357.
- 88 K. Hashimoto, H. Irie und A. Fujishima: TiO₂ Photocatalysis: A Historical Overview and Future Prospects, *Jpn. J. Appl. Phys.* **44** [12] (2005), 8269-8285.
- 89 G. Yang, J. Xie, Y. Deng, Y. Bian und F. Hong: Hydrothermal synthesis of bacterial cellulose/AgNPs composite: A "green" route for antibacterial application, *Carbohydr. Polym.* **87** [4] (2012), 2482-2487.
- 90 D.R. Monteiro, L.F. Gorup, A.S. Takamiya, A.C. Ruvollo-Filho, E.R. de Camargo und D.B. Barbosa: The growing importance of materials that prevent microbial adhesion: Antimicrobial effect of medical devices containing silver, *Int. J. Antimicrob. Agents* **34** [2] (2009), 103-110.
- 91 M.L.W. Knetsch und L.H. Koole: New Strategies in the Development of Antimicrobial Coatings: The Example of Increasing Usage of Silver and Silver Nanoparticles, *Polymers* **3** [1] (2011), 340-366.
- 92 C. Marambio-Jones und E.M.V. Hoek: A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment, *J. Nanopart. Res.* **12** [5] (2010), 1531-1551.
- 93 P.L. Taylor, A.L. Ussher und R.E. Burrell: Impact of heat on nanocrystalline silver dressings. Part I: Chemical and biological properties, *Biomaterials* **26** [35] (2005), 7221-7229.
- 94 R. Zimmermann, A. Pfuch, K. Horn, J. Weisser, A. Heft, M. Röder, R. Linke, M. Schnabelrauch und A. Schimanski: An Approach to Create Silver Containing Antibacterial Coatings by Use of Atmospheric Pressure Plasma Chemical Vapour Deposition (APCVD) and Combustion Chemical

- Vapour Deposition (CCVD) in an Economic Way, *Plasma Processes Polym.* **8** [4] (2011), 295-304.
- 95** T. Maneerung, S. Tokura und R. Rujiravanit: Impregnation of silver nanoparticles into bacterial cellulose for antimicrobial wound dressing, *Carbohydr. Polym.* **72** [1] (2010), 43-51.
- 96** A.M. Ferrara, S. Boufi, N. Battaglini, A.M. Botelho do Rego und M. ReiVilar: Hybrid Systems of Silver Nanoparticles Generated on Cellulose Surfaces, *Langmuir* **26** [3] (2010), 1996-2001.
- 97** N. Durán, P.D. Marcato, R. De Conti, O.L. Alves, F.T.M. Costa und M. Brocchi: Potential Use of Silver Nanoparticles on Pathogenic Bacteria, their Toxicity and Possible Mechanisms of Action, *J. Braz. Chem. Soc.* **21** [6] (2010), 949-959.
- 98** I. Sondi und B. Salopek-Sondi: Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria, *J. Colloid Interface Sci.* **275** [1] (2004), 177-182.
- 99** H.-D. Kurland, C. Stötzel, J. Grabow, I. Zink, E. Müller, G. Staupendahl und F.A. Müller: Preparation of Spherical Titania Nanoparticles by CO₂ Laser Evaporation and Process-Integrated Particle Coating, *J. Am. Ceram. Soc.* **93** [5] (2010), 1282-1289.
- 100** H.-D. Kurland, J. Grabow und F.A. Müller: Preparation of ceramic nanospheres by CO₂ laser vaporization (LAVA), *J. Eur. Ceram. Soc.* **31** [14] (2011), 2559-2568.
- 101** A.-G. Rincón und C. Pulgarin: Effect of pH, inorganic ions, organic matter and H₂O₂ on *E. coli* K12 photocatalytic inactivation by TiO₂ Implications in solar water disinfection, *Appl. Catal., B* **51** [4] (2004), 283-302.
- 102** A.-G. Rincón und C. Pulgarin: Absence of *E. coli* regrowth after Fe³⁺ and TiO₂ solar photoassisted disinfection of water in CPC solar photoreactor, *Catal. Today* **124** [3-4] (2007), 204-214.
- 103** S.T. Schrecker und P.A. Gotomski: Determining the water holding capacity of microbial cellulose, *Biotechnol. Lett.* **27** (2005), 1435-1438.
- 104** E. Bast: Mikrobiologische Methoden: Eine Einführung in grundlegende Arbeitstechniken, *pektrum Akademischer Verlag GmbH*, Heidelberg, 2. Auflage (2001).
- 105** T. Röder, B. Morgenstern, N. Schelosky und O. Glatter: Solutions of cellulose in *N,N*-dimethylacetamide/lithium chloride studied by light scattering methods, *Polymer* **42** [16] (2001), 6765-6773.
- 106** J. Röhring, A. Potthast, T. Rosenau, T. Lange, G. Ebner, H. Sixta und P. Kosma.: A novel method for the determination of carbonyl groups in cellulose by fluorescence labelling. 1. Method development, *Biomacromolecules* **3** [5] (2002), 959-968.
- 107** S. Hesse und T. Kondo: Behavior of cellulose production of *Acetobacter xylinum* in ¹³C-enriched cultivation media including movements on nematic ordered cellulose templates, *Carbohydr. Polym.* **60** (2005), 457-465.
- 108** S. Hesse-Ertelt, R. Witter, A.S. Ulrich, T. Kondo und T. Heinze: Spectral assignments and anisotropy data of cellulose *I_α*: ¹³C-NMR chemical shift data of cellulose *I_α* determined by INADEQUATE and RAI techniques applied to uniformly ¹³C-labeled bacterial celluloses of different *Gluconacetobacter xylinus* strains, *Magn. Reson. Chem.* **46** (2008), 1030-1036.

- 109** H. Yamamoto und F. Horii: CPMAS carbon - 13 NMR analysis of the crystal transformation induced for Valonia cellulose by annealing at high temperatures, *Macromolecules* **26** [6] (1993), 1313-1317.
- 110** B. Krause und P. Metzler: Angewandte Statistik: Lehr- und Arbeitsbuch für Psychologen, Mediziner, Biologen und Pädagogen, *VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften*, Berlin, 2. überarbeitete Auflage (1988).
- 111** S. Park, J.O. Baker, M.E. Himmel, P.A. Parilla und D.K. Johnson: Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance, *Biotechnol. Biofuels* **3** [10] (2010), 1-10.
- 112** DIN EN ISO 527-1:1996-04: Kunststoffe - Bestimmung der Zugeigenschaften - Teil 1: Allgemeine Grundsätze (ISO 527-1:1993 einschließlich Corr 1: 1994), Deutsche Fassung EN ISO 527-1:1996, *DIN Deutsches Institut für Normung e. V.*, Berlin (1996).
- 113** DIN EN ISO 527-2:1996-07: Kunststoffe - Bestimmung der Zugeigenschaften - Teil 2: Prüfbedingungen für Form- und Extrusionsmassen (ISO 527-2:1993 einschließlich Corr. 1:1994); Deutsche Fassung EN ISO 527-2:1996, *DIN Deutsches Institut für Normung e. V.*, Berlin (1996).
- 114** DIN EN ISO 604:2003-12: Kunststoffe - Bestimmung von Druckeigenschaften, *DIN Deutsches Institut für Normung e. V.*, Berlin (2003).
- 115** A. Arora und S. Mitragotri: Novel Topical Microbicides Through Combinatorial Strategies, *Pharm. Res.* **27** [7] (2010), 1264-1272.
- 116** DIN 58940-3:2007-10: Medizinische Mikrobiologie – Empfindlichkeitsprüfung von mikrobiellen Krankheitserregern gegen Chemotherapeutika – Teil 3: Agar-Diffusionstest, *DIN Deutsches Institut für Normung e. V.*, Berlin.
- 117** DIN EN ISO 20645:2005-02: Textile Flächengebilde – Prüfung der antibakteriellen Wirkung – Agarplattendiffusionstest (ISO 20645:2004), *DIN Deutsches Institut für Normung e. V.*, Berlin.
- 118** U.-C. Hipler, P. Elsner und J.W. Fluhr: Antifungal and Antibacterial Properties of a Silver-Loaded Cellulosic Fiber, *J. Biomed. Mater. Res. B* **77B** [1] (2006), 156-163.
- 119** DIN 52980:2008-10: Photokatalytische Aktivität von Oberflächen - Bestimmung der photokatalytischen Aktivität durch Abbau von Methylenblau, *DIN Deutsches Institut für Normung e. V.*, Berlin.
- 120** Y. Yang, Q. Wu, Y. Guo, C. Hu und E. Wang: Efficient degradation of dye pollutants on nanoporous polyoxotungstate–anatase composite under visible-light irradiation, *J. Mol. Catal. A: Chem.* **225** [2] (2005), 203-212.
- 121** A. Mills und J. Wang: Photobleaching of methylene blue sensitised by TiO_2 : an ambiguous system?, *J. Photochem. Photobiol., A* **127** [1-3] (1999), 123-134.
- 122** N.R. de Tacconi, J. Carmona und K. Rajeshwar: Reversibility of Photoelectrochromism at the TiO_2 /Methylene Blue Interface, *J. Electrochem. Soc.* **144** [7] (1997), 2486-2490.
- 123** J. Käßbohrer: Entwicklung eines Schnelltests zur Charakterisierung der photochemischen Aktivität von PLASMOCER®-Schichten, Diplomarbeit, Friedrich-Schiller-Universität Jena, 1997.

- 124 S.-K. Lee und A. Mills: Luminescence of *Leuco*-Thiazine Dyes, *J. Fluoresc.* **13** [5] (2003), 375-377.
- 125 J. Käßbohrer, I. Hennig und G. Kreisel: Methode zum Screening von Photokatalysatoren durch einen chemischen Schnelltest, *GIT Labor Fachz.* **43** [12] (1999), 1318-1320.
- 126 C. Graf, R. Ohser-Wiedemann und G. Kreisel: Preparation and characterization of doped metal-supported TiO₂-layers, *J. Photochem. Photobiol., A* **188** [2-3] (2007), 226-234.
- 127 K.D. Asmus, H. Moeckel und A. Henglein: Pulse radiolytic study of the site of hydroxyl radical attack on aliphatic alcohols in aqueous solution, *J. Phys. Chem.* **77** [10] (1973), 1218-1221.
- 128 K: Okajima, Y: Matsuda und Kenji Kamide: Study on Change in the Degree of Polymerisation of Bacterial Cellulose Produced by *Acetobacter xylinum* during its Cultivation *Polym. Int.* **25** [3] (1991), 145-151.
- 129 A. Sarko und R. Muggli: Packing Analysis of Carbohydrates and Polysaccharides. III. Valonia Cellulose and Cellulose II, *Macromolecules* **7** [4] (1974), 486-494.
- 130 U. Udhardt, S. Hesse und D. Klemm: Analytical Investigations of Bacterial Cellulose, *Macromol. Symp.* **223** [1] (2005), 201-212.
- 131 C. Clasen, B. Sultanova, T. Wilhelms, P. Heisig und W.-M. Kulicke: Effects of Different Drying Processes on the Material Properties of Bacterial Cellulose Membranes, *Macromol. Symp.* **244** [1] (2006), 48-58.
- 132 M. Gelinsky, M. Eckert und F. Despang: Biphasic but monolithic scaffolds for therapy of osteochondral defects, *Int. J. Mater. Res.* **2007** [8] (2007), 749-755.
- 133 J. Li, Y. Wan, L. Li, H. Liang und J. Wang: Preparation and characterization of 2,3-dialdehyde bacterial cellulose for potential biodegradable tissue engineering scaffolds, *Mater. Sci. Eng., C* **29** [5] (2009), 1635-1642.
- 134 J. Zeng, S. Liu, J. Cai und L. Zhang: TiO₂ Immobilized in Cellulose Matrix for Photocatalytic Degradation of Phenol under Weak UV Light Irradiation, *J. Phys. Chem. C* **114** [17] (2010), 7806-7811.
- 135 J. Winkler: Titandioxid, *Vincentz Network GmbH & Co. KG*, Hannover, 1. Auflage (2003).
- 136 H.D. Jang, S.-K. Kim und S.-J. Kim: Effect of particle size and phase composition of titanium dioxide nanoparticles on the photocatalytic properties, *J. Nanopart. Res.* **3** [2-3] (2001), 141-147.
- 137 S. Alila, A.M. Ferraria, A.M. Botelho do Rego und S. Boufi: Controlled surface modification of cellulose fibers by amino derivatives using *N,N'*-carbonyldiimidazole as activator, *Carbohydr. Polym.* **77** [3] (2009), 553-562.
- 138 S. Boufi, A.M. Ferraria, A.M. Botelho do Rego, N. Battaglini, F. Herbst und M. Rei Vilar: Surface functionalisation of cellulose with noble metals nanoparticles through a selective nucleation, *Carbohydr. Polym.* **86** [4] (2011), 1586-1594.
- 139 S. Boufi, M. Rei Vilar, V. Parra, A.M. Ferraria und A.M. Botelho do Rego: Grafting of Porphyrins on Cellulose Nanometric Films, *Langmuir* **24** [14] (2008), 7309-7315.
- 140 C. Wiegand, P. Elsner, U.-C. Hipler und D. Klemm: Protease and ROS activities influenced by a composite of bacterial cellulose and collagen type I in vitro, *Cellulose* **13** [6] (2006), 689-696.

- 141** G. Rodríguez-Gattorno, D. Díaz, L. Rendón und G.O. Hernández-Segura: Metallic Nanoparticles from Spontaneous Reduction of Silver(I) in DMSO. Interaction between Nitric Oxide and Silver Nanoparticles, *J. Phys. Chem. B* **106** [10] (2002), 2482-2487.
- 142** D. Klemm, D. Schumann, F. Kramer, N. Heßler, M. Hornung, H.-P. Schmauder und S. Marsch: Nanocelluloses as Innovative Polymers in Research and Application, *Adv. Polym. Sci.* **205** (2006), 49-96.
- 143** J. Cybulska, E. Vanstreels, Q.T. Ho, C.M. Courtin, V.V. Craeyveld, B. Nicolai, A. Zdunek und K. Konstankiewicz: Mechanical characteristics of artificial cell walls, *J. Food Eng.* **96** [2] (2010), 287-294.
- 144** O.M. Astley, E. Chanliaud, A.M. Donald und M.J. Gidley: Tensile deformation of bacterial cellulose composites, *Int. J. Biol. Macromol.* **32** [1-2] (2003), 28-35.
- 145** S. Keshk: Physical properties of bacterial cellulose sheets produced in presence of lignosulfonate, *Enzyme Microb. Technol.* **40** [1] (2006), 9-12.
- 146** L.H. Sperling: Introduction to Physical Polymer Science, *Wiley & Sons Ltd.*, New York, 4. Auflage (2006).
- 147** C. Babac, T. Kutsal und E. Pişkin: Production and Characterization of Biodegradable Bacterial Cellulose Membranes, *Int. J. Nat. Eng. Sci.* **3** [2] (2009), 17-20.
- 148** J. Geng, D. Yang, Y. Zhu, L. Cao, Z. Jiang und Y. Sun: One-pot biosynthesis of polymer-inorganic nanocomposites, *J. Nanopart. Res.* **13** [6] (2011), 2661-2670.
- 149** O. Seven, B. Dindar, S. Aydemir, D. Metin, M.A. Ozinel und S. Icli: Solar photocatalytic disinfection of a group of bacteria and fungi aqueous suspensions with TiO₂, ZnO and Sahara desert dust, *J. Photochem. Photobiol., A* **165** [1-3] (2004), 103-107.
- 150** P.-C. Maness, S. Smolinski, D.M. Blake, Z. Huang, E.J. Wolfrum und W.A. Jacoby: Bactericidal Activity of Photocatalytic TiO₂ Reaction: toward an Understanding of Its Killing Mechanism, *Appl. Environ. Microbiol.* **65** [9] (1999), 4094-4098.
- 151** K. Zaar: Visualization of pores (export sites) correlated with cellulose production in the envelope of the gram-negative bacterium *Acetobacter xylinum*, *J. Cell Biol.* **80** [3] (1979), 773-777.
- 152** Y. He, A. Tilocca, O. Dulub, A. Selloni und U. Diebold: Local ordering and electronic signatures of submonolayer water on anatase TiO₂ (101), *Nat. Mater.* **8** [7] (2009), 585-589.
- 153** C. Sun, L.-M. Liu, A. Selloni, G.Q. Lu und S.C. Smith: Titania-water interactions: a review of theoretical studies, *J. Mater. Chem.* **20** [46] (2010), 10319-10334.
- 154** M. Kusabe, H. Kozuka, S. Abe und H. Suzuki: Sol-gel preparation and properties of hydroxypropylcellulose-titania hybrid thin films, *J. Sol-Gel Sci. Technol.* **44** [2] (2007), 111-118.
- 155** L.C. de Santa Maria, A.L.C. Santos, P.C. Oliveira, H.S. Barud, Y. Messaddeq, S.J.L. Ribeiro: Synthesis and characterization of silver nanoparticles impregnated into bacterial cellulose, *Mater. Lett.* **63** [9-10] (2009), 797-799.
- 156** E. Celon und S. Bresadola: On the use of sodium borohydride in the microdetermination of chlorine or bromine in highly halogenated organic compounds, *Microchim. Acta* **57** [2] (1969), 441-448.

- 157** C.L. Gallant-Behm, H.Q. Yin, S. Liu, J.P. Heggors, R.E. Langford, M.E. Olson, D.A. Hart und R.E. Burrell: Comparison of in vitro disc diffusion and time kill-kinetic assays for the evaluation of antimicrobial wound dressing efficacy, *Wound Repair Regen.* **13** [4] (2005), 412-421.
- 158** K. Bhanat, N. Parashar, K. Jain und V.K. Sharma: Synthesis and Antimicrobial Study of 4-Benzylidene-2-phenyl-1-(5-phenylthiazole-2-yl)-1H-imidazol-5(4H)-one, *Asian J. of Biochem. and Pharm. Res.* **1** [1] (2011), 83-90.
- 159** A: Chawla, A. Sharma und A.K. Sharma: A convenient approach for the synthesis of imidazole derivatives using microwaves, *Der Pharma Chemica* **4** [1] (2012), 116-140.
- 160** D.R. Solway, W.A. Clark und D.J. Levinson: A parallel open-label trial to evaluate microbial cellulose wound dressing in the treatment of diabetic foot ulcers, *International Wound Journal* **8** [1] (2011), 69-73.
- 161** G.D. Winter: Formation of the Scab and the Rate of Epithelization of Superficial Wounds in the Skin of the Young Domestic Pig, *Nature* **193** [4812] (1962), 293-294.

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen und Symbole

Abkürzungen

Ag	Silber
Ag ⁺	Silber-Ionen
Ag10	BNC-Hybrid, <i>post</i> -modifiziert mit $c_{AgNO_3} = 1,0 \cdot 10^{-2}$ mol/l
Ag2.5	BNC-Hybrid, <i>post</i> -modifiziert mit $c_{AgNO_3} = 2,5 \cdot 10^{-3}$ mol/l
Ag20	BNC-Hybrid, <i>post</i> -modifiziert mit $c_{AgNO_3} = 2,0 \cdot 10^{-2}$ mol/l
Ag5	BNC-Hybrid, <i>post</i> -modifiziert mit $c_{AgNO_3} = 5,0 \cdot 10^{-3}$ mol/l
Ag5-1h	BNC-Hybrid, <i>post</i> -modifiziert mit $c_{AgNO_3} = 5,0 \cdot 10^{-3}$ mol/l für eine Stunde (entspricht Ag5)
Ag5-2h	BNC-Hybrid, <i>post</i> -modifiziert mit $c_{AgNO_3} = 5,0 \cdot 10^{-3}$ mol/l für zwei Stunden
Ag5-3h	BNC-Hybrid, <i>post</i> -modifiziert mit $c_{AgNO_3} = 5,0 \cdot 10^{-3}$ mol/l für drei Stunden
AgNO ₃	Silbernitrat
AGU	Anhydro-Glucose-Einheit (anhydroglucose unit)
AMA	Antimikrobielle Aktivität
ATCC [®]	American Type Culture Collection
ATP	Adenosintriphosphat
ATR	abgeschwächte Totalreflexion (attenuated total reflection)
BNC	bakteriell synthetisierte Nanocellulose
BTG-Test	BacTiter-Glo [™] -Test
CDI	<i>N</i> - <i>N'</i> -Carbonyldiimidazol
CFU	koloniebildende Einheiten (colony forming units)
CP/MAS	Kreuzpolarisation / Drehung im magischen Winkel (cross-polarization / magic angle spinning)
DAB	1,4-Diaminobutan
DMAc	<i>N,N</i> -Dimethylacetamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNPH	2,4-Dinitrophenylhydrazin
DNS	Desoxyribonukleinsäure
DSM	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH
<i>E. coli</i>	Escherichia coli
EDX	Energiedispersive Röntgenspektroskopie (energy dispersive X-ray spectroscopy)
FDNPH	Formaldehyd-2,4-Dinitrophenyl-hydrazon
FT	Fourier-Transformation
FWV	Feuchtwundverband
GH	<i>Gluconacetobacter hansenii</i>

GH1	BNC von <i>Gluconacetobacter hansenii</i> ATCC® 23769
GPC	Gel-Permeations-Chromatographie
GX	<i>Gluconacetobacter xylinus</i>
GX1	BNC von <i>Gluconacetobacter xylinus</i> DSM 14666
GX2	BNC von <i>Gluconacetobacter xylinus</i> ATCC® 10245
GX3	BNC von <i>Gluconacetobacter xylinus</i> ATCC® 53582
LAVA	Laser-Verdampfung (laser vaporization)
H ⁺	Proton
H ₂ O	Wasser
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
H ₃ O ⁺	Hydronium-Ion
HCHO	Formaldehyd
HO ₂ [•]	Hydroperoxy-Radikal
HPLC	Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie
HSM	Hestrin-Schramm-Medium
IR	infrarot
LB	Leitungsband
LZZ	Lebend-Zell-Zahl (colony forming unit)
MB	Methylenblau
MK	Methanol-Konversion
NaBH ₄	Natriumborhydrid
NMR	Kernspinresonanz (nuclear magnetic resonance)
O ₂	Sauerstoff
O ₂ ^{•-}	Superoxid-Anion-Radikal
OH [•]	Hydroxyl-Radikal
PDI	Polydispersitätsindex
PKA	Photokatalytische Aktivität
PO ₄ ³⁻	Phosphat-Ionen
ppm	Teile pro Million (parts per million)
R-SH	Thiol-Gruppe
REM	Rasterelektronenmikroskopie
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
rpm	Umdrehungen pro Minute (revolutions per minute)
T00	BNC-Hybrid, <i>in situ</i> -modifiziert mit $c_{TIO_2} = 0,0$ g/l
T05	BNC-Hybrid, <i>in situ</i> -modifiziert mit $c_{TIO_2} = 0,5$ g/l
T10	BNC-Hybrid, <i>in situ</i> -modifiziert mit $c_{TIO_2} = 1,0$ g/l
T20	BNC-Hybrid, <i>in situ</i> -modifiziert mit $c_{TIO_2} = 2,0$ g/l
TC	cellulose-synthetisierender Komplex (terminal complex)
TEM	Transmissionselektronenmikroskopie

Ti(OR) ₄	Titan-Alkoxid
UDP	Uridindiphosphat
UV	ultraviolett
VB	Valenzband
VIS	sichtbar (visible)
WAV	Wasseraufnahmevermögen
WRV	Wasserrückhaltevermögen
XRD	Röntgenbeugung (X-ray diffraction)

Symbole

$1/\lambda$	Wellenzahl [1/cm]
2θ	Winkel zur Netzebene, unter dem die Röntgen-Strahlung auftrifft [°]
A	Fläche [mm ²]
A_λ	wellenzahlabhängige Absorbanz
$A_{\lambda 0}$	initiale Absorbanz der MB-Prüflösung
$A_{\lambda t}^\bullet$	bestimmte zeitabhängige MB-Absorbanz
$A_{\lambda t}^\bullet/A_{\lambda 0}$	Verhältnis aus bestimmter zeitabhängiger MB-Absorbanz und Absorbanz der MB-Prüflösung
$A_{NPS-\%}$	aus den REM-Aufnahmen bestimmter prozentualer Flächenanteil der Nanopartikel [%]
A_P	Porenfläche [μm ²]
$A_{P\%}$	aus den REM-Aufnahmen bestimmter prozentualer Flächenanteil der Poren [%]
B_{UVA}	Bestrahlungsstärke im nahen ultravioletten Bereich [mW/cm ²]
B_{VIS}	Bestrahlungsstärke im sichtbaren Bereich [mW/cm ²]
c	Konzentration [mol/l]
c_0	Ausgangskonzentration der MB-Prüflösung [μmol/l]
c_{AgNO_3}	Silbernitrat-Konzentration [mol/l]
CFU	koloniebildende Einheiten (colony forming units) [ml ⁻¹]
c_{HCHO}	Formaldehyd-Konzentration [mol/l]
c_{Kon}	Konzentration der MB-Konditionierungslösung [μmol/l]
c_{OH^\bullet}	Hydroxyl-Radikal-Konzentration [mol/l]
cps_{norm}	Zählimpulse pro Sekunde (counts per second), auf 1 normiert
c_{TiO_2}	Titandioxid-Konzentration [g/l]
δ	¹³ C-chemische Verschiebung [ppm]
D_c	Kristallinitätsgrad [%]

D_{c-I}	Kristallinitätsgrad, bestimmt aus den Peak-Flächen der kristallinen und amorphen Anteile [%]
D_{c-P}	Kristallinitätsgrad, bestimmt aus den Peak-Intensitäten der kristallinen und amorphen Anteile [%]
d_F	aus den REM-Aufnahmen bestimmter durchschnittlicher BNC-Faser-Durchmesser [nm]
d_H	Durchmesser des gebildeten Hemmhofs [mm]
d_K	Kultivierungszeit [d]
d_M	Median der untersuchten Nanopartikel-Durchmesser [nm]
d_{NPs}	Mittelwert des Nanopartikel-Durchmessers [nm]
$d_{NPs-MAX}$	maximaler Nanopartikel-Durchmesser [μm]
d_P	aus den REM-Aufnahmen bestimmter mittlerer Porendurchmesser [μm]
d_{P-MAX}	aus den REM-Aufnahmen bestimmter maximaler Porendurchmesser [μm]
DP_n	Polymerisationsgrad, berechnet aus dem Zahlenmittel der Molmasse
ε	nominelle Dehnung
E	Elastizitätsmodul [GPa]
ε_D	nominelle Stauchung
E_g	Bandlücken-Energie [eV]
E_λ	optische Extinktion
ε_m	Dehnung bei R_m
E_x	Energie der Röntgenquanten [keV]
F	Kraft [N]
g	Gravitationsbeschleunigung [9,81 m/s ²]
ϑ	Temperatur [°C]
\hbar	Plancksches Wirkungsquantum [$6,626 \cdot 10^{-34}$ Js]
h	relative Häufigkeit [%]
I_L	Lumineszenz [counts]
I_{mAU}	Intensität in Milli-Absorptions-Einheiten (milli absorption units) [mAU]
I_{norm}	normierte Beugungs-Intensität
kb	berechnete Klassenbreite [nm]
λ	Wellenlänge [nm]
λ_{max}	Wellenlänge bei maximaler Extinktion [nm]
μ	Erwartungswert des Nanopartikel-Durchmessers [nm]
m	Masse [g]
M	Molmasse [g/mol]
M_{AGU}	Molare Masse der Anhydro- β -D-Glucopyranose-Einheit [g/mol]
m_{F1}	Feuchtmasse im Rahmen der WAV-Berechnung [g]
m_{F2}	Feuchtmasse im Rahmen der WRV-Berechnung [g]
$m_{G/l}$	die auf einen Liter bezogene Glucose-Masse [g]

m_{Glu}	eingesetzte Glucose-Masse während der Kultivierung [g]
M_n	Zahlenmittel der Molmasse [g/mol]
m_T	Trockenmasse im Rahmen der Ausbeute-Berechnung [g]
m_{T1}	Trockenmasse im Rahmen der WAV-Berechnung [g]
m_{T2}	Feuchtmasse im Rahmen der WRV-Berechnung [g]
M_w	Massenmittel der Molmasse [g/mol]
ν	Frequenz [Hz]
n_{ges}	Gesamtanzahl
n_{kb}	Anzahl der berechneten Klassen
n_{Kol}	Anzahl der vermehrungsfähigen Bakterienkolonien
P	Laser-Leistung [W]
PDI	Polydispersitätsindex
R_m	Zugfestigkeit [MPa]
σ	nominelle Zugspannung [MPa]
s	Abstand [cm]
σ_D	nominelle Druckspannung [MPa]
σ_{D50-01}	nominelle Druckspannung bei einer nominellen Stauchung ε_D von 50 %, bestimmt bei einer Kompressionsgeschwindigkeit von $v_{druck} = 1$ mm/min, [MPa]
σ_{D50-05}	nominelle Druckspannung bei einer nominellen Stauchung ε_D von 50 %, bestimmt bei einer Kompressionsgeschwindigkeit von $v_{druck} = 5$ mm/min, [MPa]
σ_{D50-10}	nominelle Druckspannung bei einer nominellen Stauchung ε_D von 50 %, bestimmt bei einer Kompressionsgeschwindigkeit von $v_{druck} = 10$ mm/min, [MPa]
t	Zeit [s]
ν	Schiefe
V	Volumen [ml]
v_{druck}	Kompressionsgeschwindigkeit beim Kompressionstest [mm/min]
$Vol\%$	Volumenprozent
v_{zug}	Deformationsgeschwindigkeit beim Zugversuch [mm/min]
w	Massenanteil [g/mol]
WAV	Wasseraufnahmevermögen [%]
WRV	Wasserrückhaltevermögen [%]
γ	Exzess
Y	Ausbeute [g/l]

Anhang

1. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen

1.1. BNC der *Gluconacetobacter*-Stämme

1.1.1. Porengrößenverteilung in der mittleren Schicht

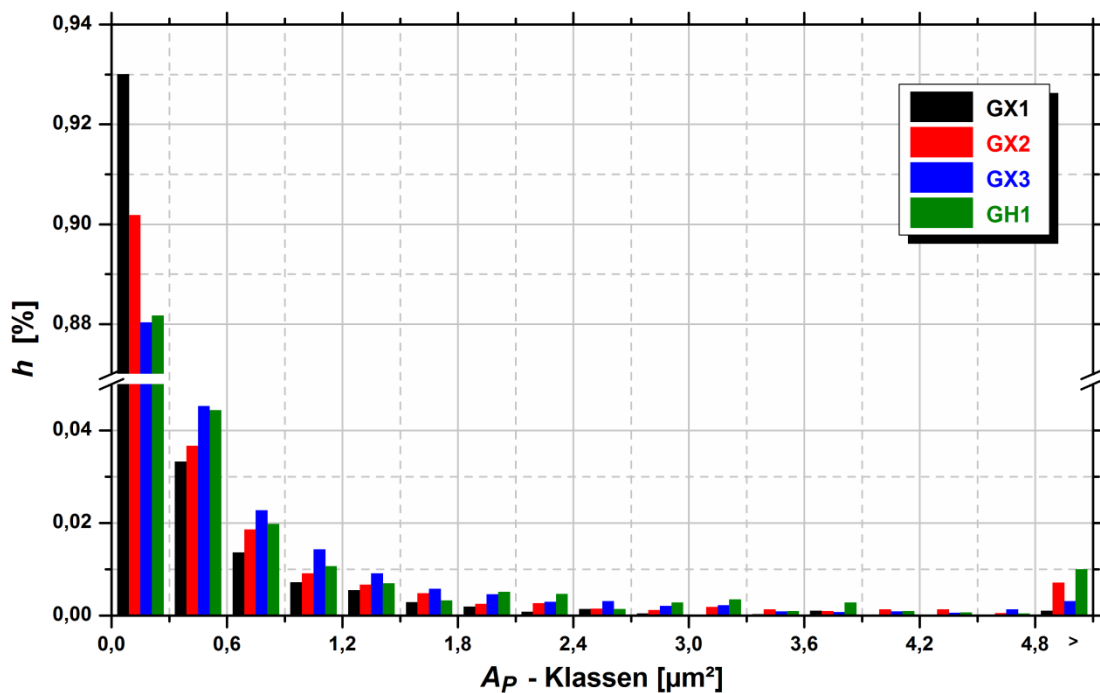


Abb.A1: Häufigkeitsverteilung der mit dem Bildbearbeitungsprogramm ImageJ bestimmten Porenflächen A_P für die untersuchten Bakterienstämme GX1, GX2, GX3 und GH1 (Abb.14).

1.1.2. Porengröße in der oberen Schicht

Probe	GX1	GX2	GX3	GH1
d_{P-MAX} [μm]	0,296	0,243	0,197	0,202
d_P [μm]	0,135	0,117	0,079	0,099
$A_{P\%}$ [%]	$5,7 \pm 0,4$	$8,7 \pm 0,4$	$6,6 \pm 0,3$	$7,3 \pm 0,4$

Tab.A1: Durch das Bildbearbeitungsprogramm ImageJ bestimmter maximaler Porendurchmesser d_{P-MAX} , mittlerer Porendurchmesser d_P sowie prozentualer Flächenanteil der Poren $A_{P\%}$ in der oberen Schicht der untersuchten Bakterienstämme GX1, GX2, GX3 und GH1 (Abb.A2, Anhang).

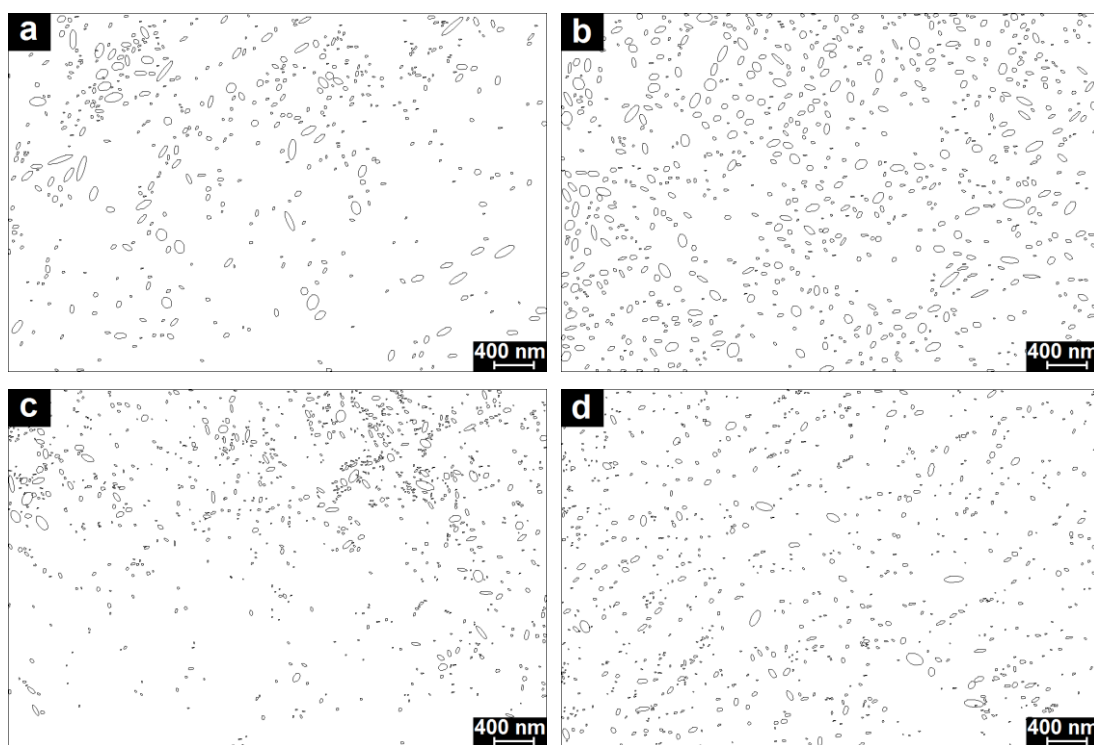


Abb.A2: Aus den REM-Aufnahmen, aufgenommen bei 10000-facher Vergrößerung, mit ImageJ bestimmte Porenverteilungen an den BNC-Oberseiten der 4 Bakterienstämme a) GX1, b) GX2, c) GX3 und d) GH1.

1.2. BNC-TiO₂-Hybride

1.2.1. PorengröÙeverteilung in der mittleren Schicht der BNC-TiO₂-Hybride

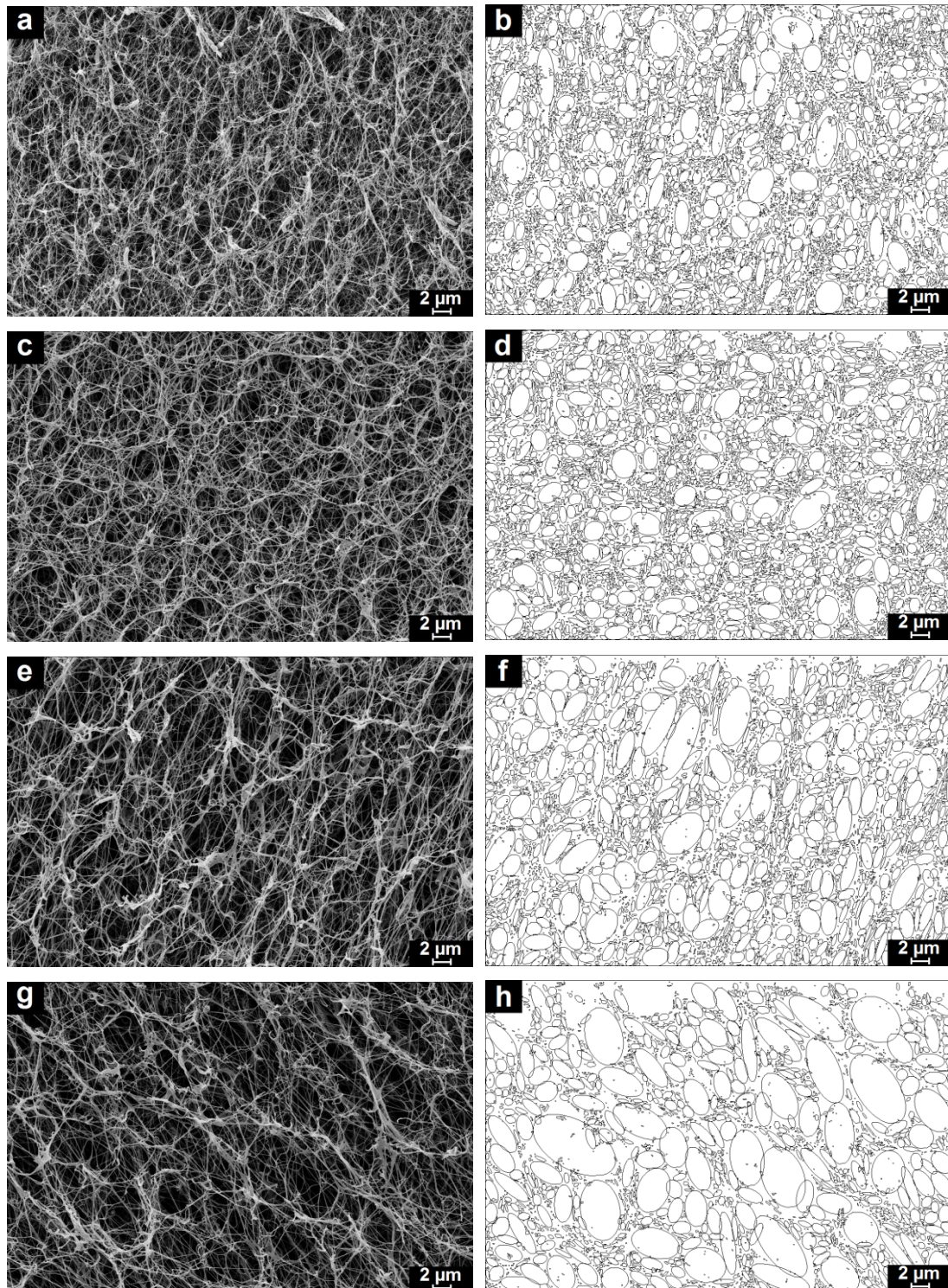


Abb.A3: REM-Aufnahmen der mittleren Schicht von den gefriergetrockneten BNC-TiO₂-Hybriden a) T00, c) T05, e) T10 und g) T20 bei 1000-facher Vergrößerung (linke Spalte) sowie die mit ImageJ bestimmten Porenverteilungen für b) T00, d) T05, f) T10 und h) T20 (rechte Spalte).

1.2.2. Nanopartikel-Verteilung in allen Schichten der BNC-TiO₂-Hybride

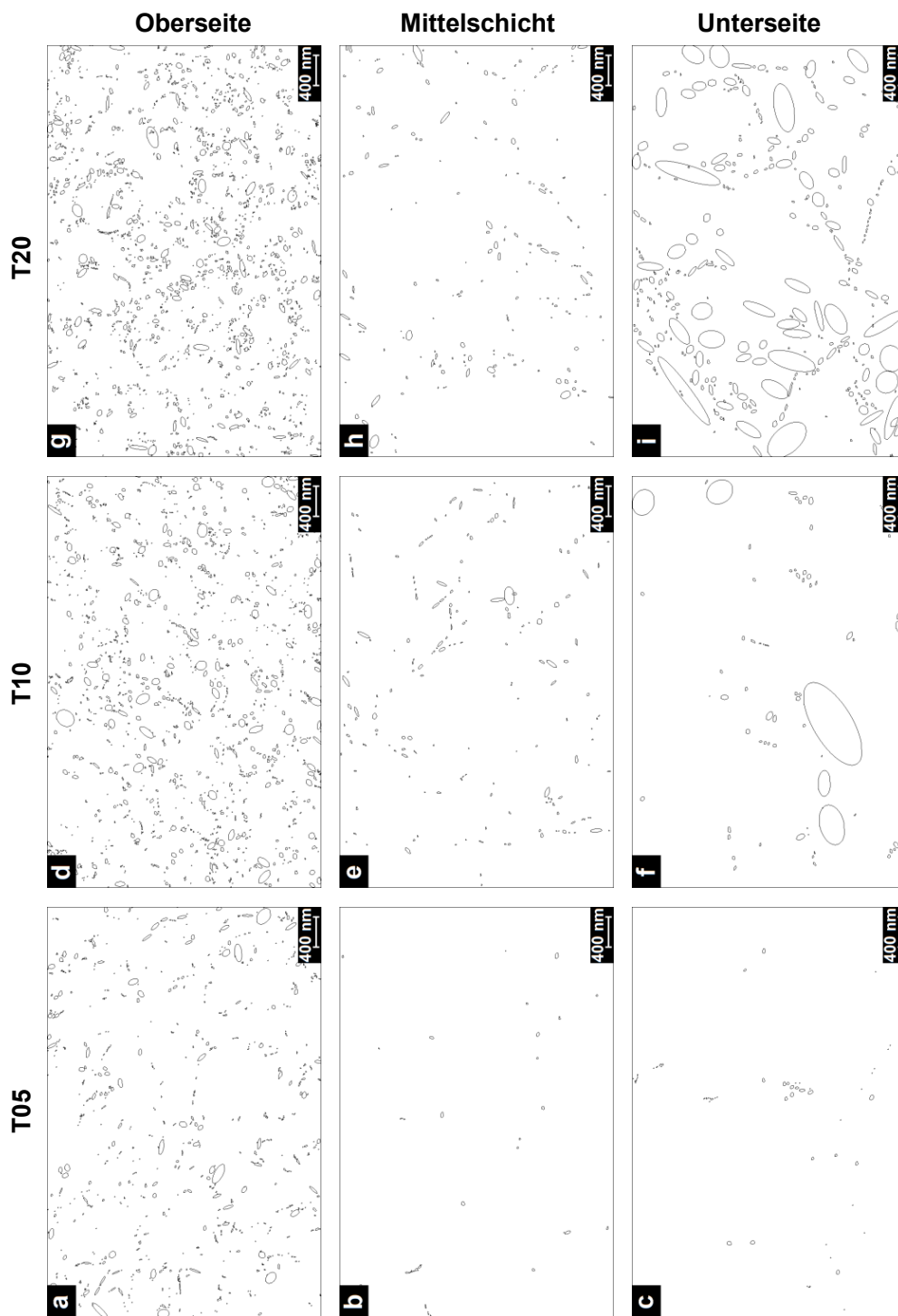


Abb.A4: REM-Aufnahmen der Oberseite (a, d und g), der Mittelschicht (b, e und h) sowie der Unterseite (c, f und i) von den gefriergetrockneten BNC-TiO₂-Hybriden T05 (a-c), T10 (d-f) und T20 (g-i) bei 10000-facher Vergrößerung.

1.3. Ag-BNC-Hybride

1.3.1. REM-Aufnahmen von der oberen und unteren Schicht der Ag-modifizierten BNC-Hybride bei 10000-facher Vergrößerung

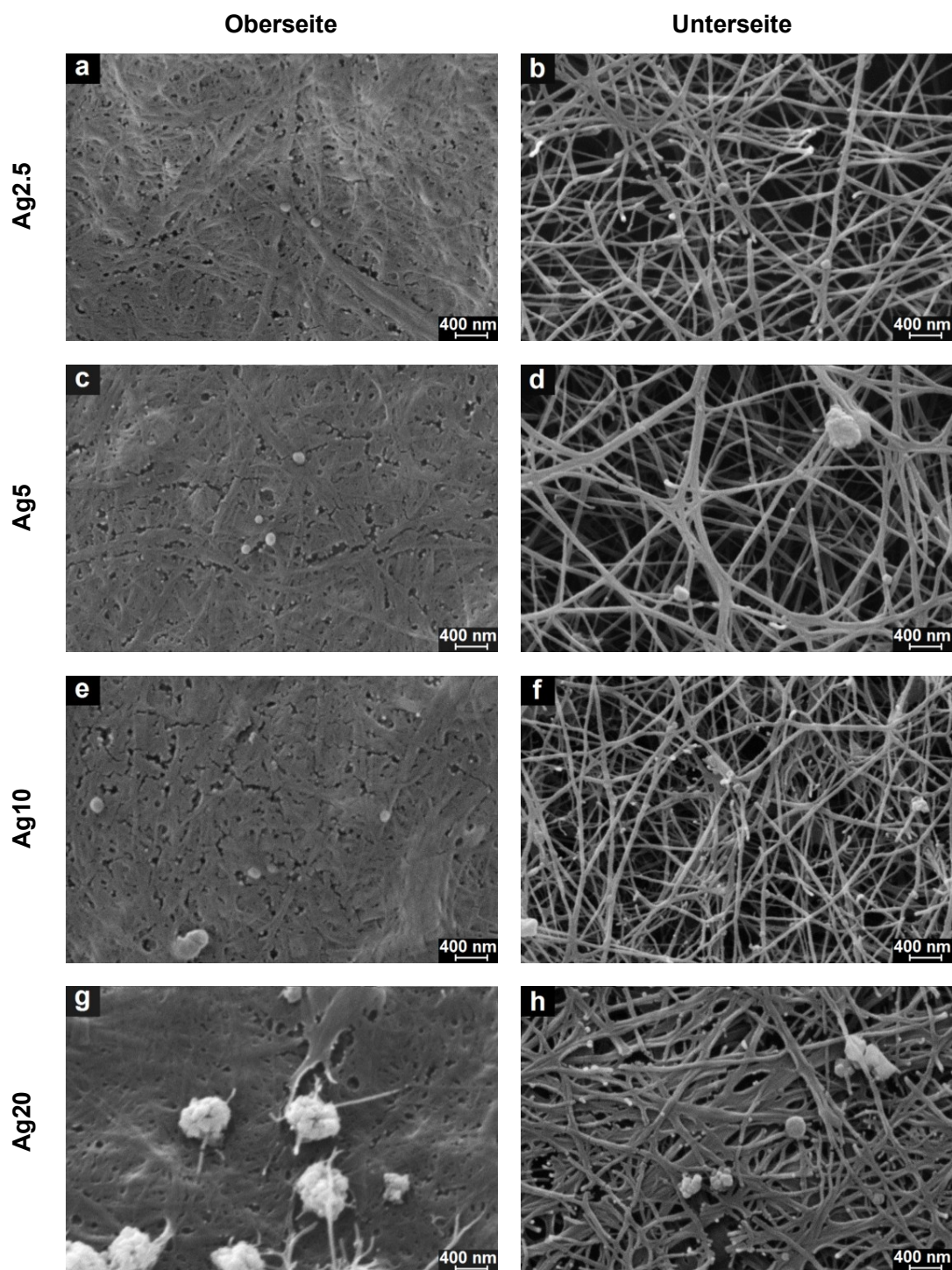


Abb.A5: REM-Aufnahmen von der Oberseite (a, c, e und g) und der Unterseite (b, d, f und h) von den gefriergetrockneten Ag-modifizierten BNC-Proben Ag2.5 (a und b), Ag5 (c und d), Ag10 (e und f) und Ag20 (g und h) bei 10000-facher Vergrößerung.

1.3.2. REM-Aufnahmen von der mittleren Schicht der Ag-modifizierten BNC-Probe Ag20

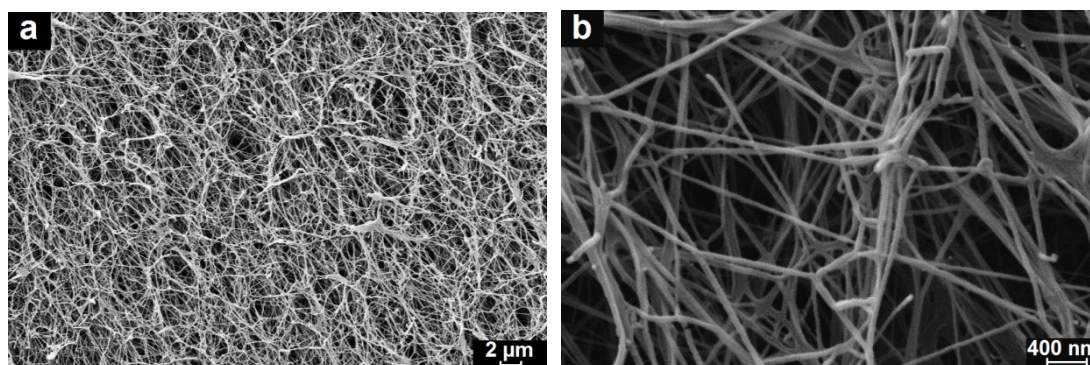


Abb.A6: REM-Aufnahmen der mittleren Schicht von der gefriergetrockneten Ag-modifizierten BNC-Probe Ag20 bei a) 1000-facher- und b) 10000-facher Vergrößerung.

1.3.3. Porengrößenverteilung in der mittleren Schicht der Ag-modifizierten BNC-Probe Ag20

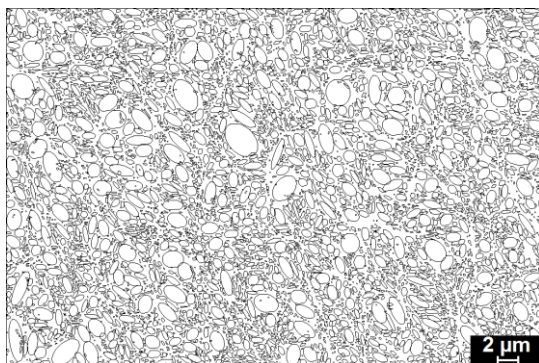


Abb.A7: Die mit ImageJ bestimmte Porenverteilung in der mittleren Schicht der Ag-modifizierten BNC-Probe Ag20 (Abb.A6a, Anhang).

Probe	d_{P-MAX} [μm]	d_P [μm]	$A_{P\%}$ [%]	d_F [nm]
Ag20	7,44	2,40	$55,1 \pm 5,2$	62 ± 12

Tab.A2: Durch das Bildbearbeitungsprogramm ImageJ bestimmter maximaler Porendurchmesser d_{P-MAX} , mittlerer Porendurchmesser d_P , prozentualer Flächenanteile der Poren $A_{P\%}$ sowie der mit dem Programm AxioVision ermittelte durchschnittliche BNC-Faser-Durchmesser d_F der mittleren Schicht (Querschnitt) von der Ag-modifizierten BNC-Probe Ag20 (Abb.A6 und A7, Anhang).

1.3.4. Nanopartikel-Verteilung in der oberen und unteren Schicht der Ag-modifizierten BNC-Hybride unterschiedlicher AgNO_3 -Konzentration

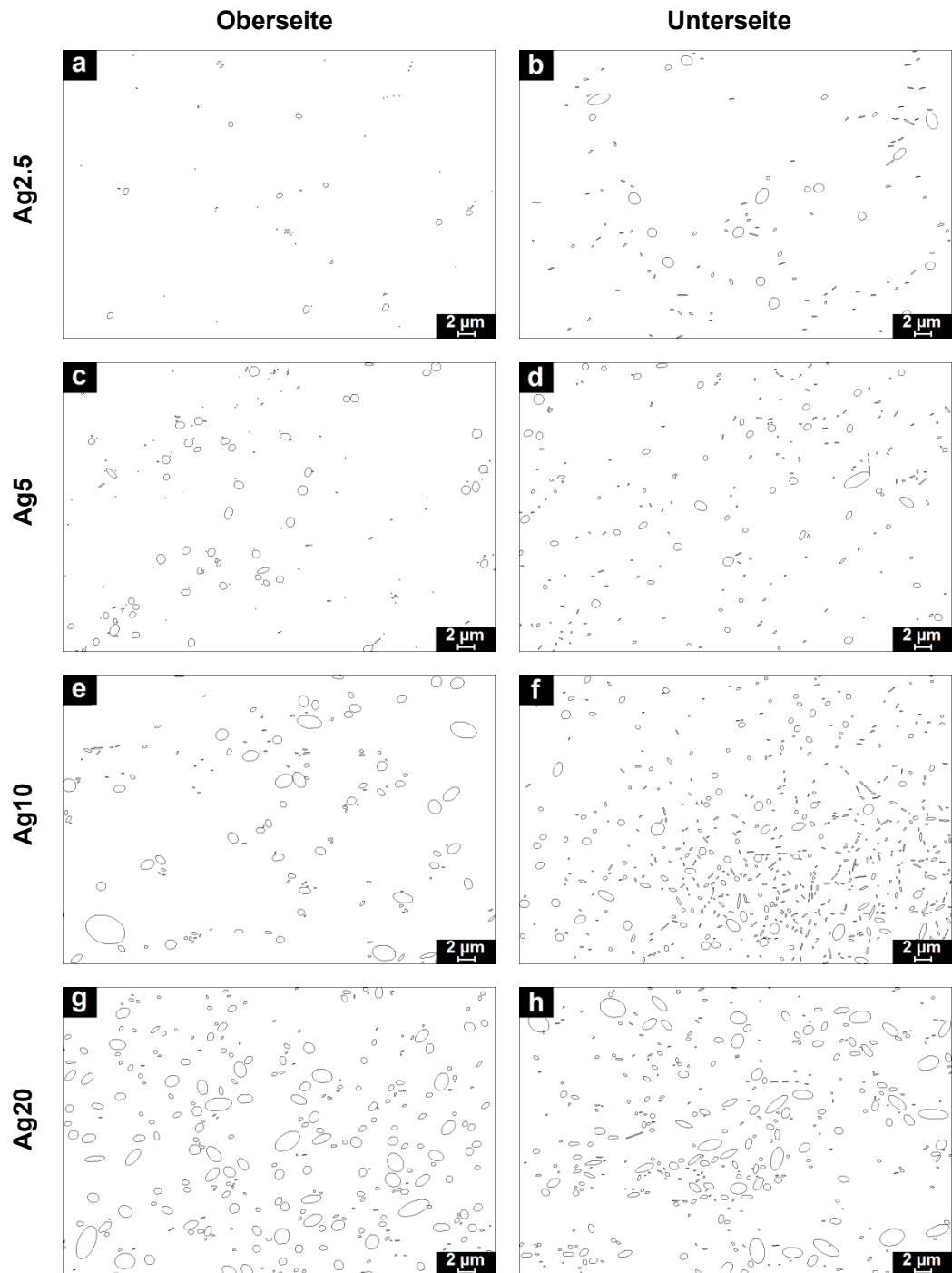


Abb.A8: Die mit ImageJ aus den REM-Aufnahmen bestimmten Nanopartikel-Verteilungen der Oberseite (a, c, e und g) und der Unterseite (b, d, f und h) von den gefriergetrockneten Ag-modifizierten BNC-Proben Ag2.5 (a und b), Ag5 (c und d), Ag10 (e und f) und Ag20 (g und h) bei 1000-facher Vergrößerung.

1.3.5. Nanopartikel-Verteilung in der oberen und unteren Schicht der Ag-modifizierten BNC-Hybride unterschiedlicher Reaktionszeiten in der AgNO_3 -Lösung

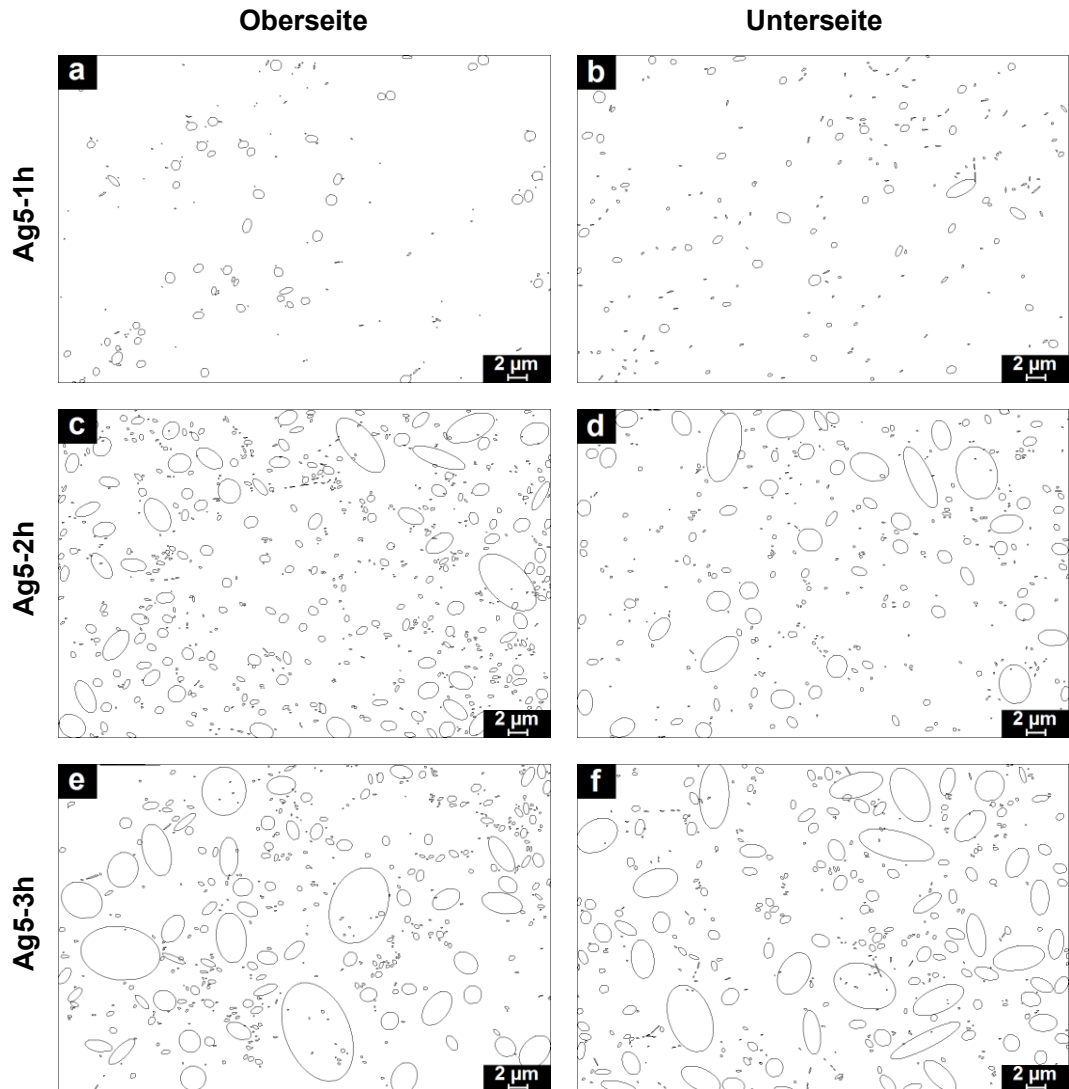


Abb.A9: Die mit ImageJ aus den REM-Aufnahmen bestimmten Nanopartikel-Verteilungen der Oberseite (a, c, und e) und der Unterseite (b, d, und f) vom gefriergetrockneten Ag-modifizierten BNC-Hybrid Ag5 nach einer Reaktionszeit von einer Stunde (Ag5-1h, a und b), 2 Stunden (Ag5-2h, c und d) und 3 Stunden (Ag5-3h, e und f) in AgNO_3 -Lösung bei 1000-facher Vergrößerung.

1.4. Energiedispersive Röntgenspektroskopie

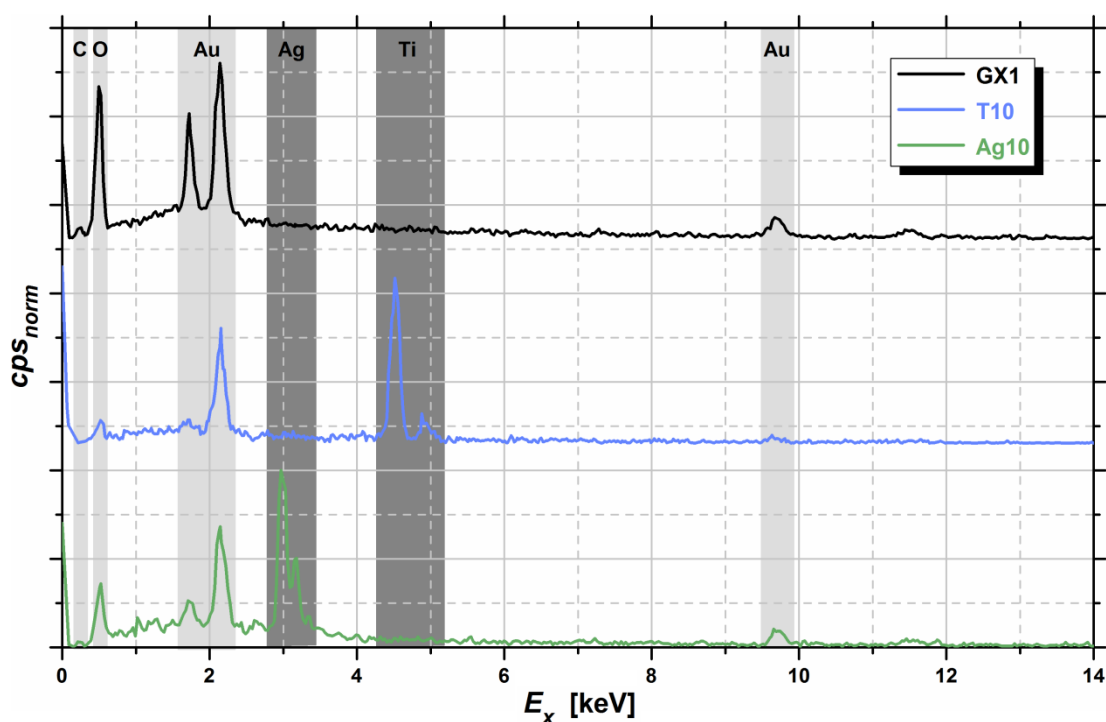


Abb.A10: EDX-Spektren, aufgenommen bei 1000-facher Vergrößerung der oberen Schicht, von BNC des Bakterienstamms GX1, vom BNC-TiO₂-Hybrid T10 sowie von der Ag-modifizierten BNC-Probe Ag10. Die Bereiche der Peaks von Cellulose (C und O) und der Gold-Beschichtung sind hellgrau, die Peaks von Titan und Silber sind dunkelgrau hinterlegt.

Röntgen-Linie	C	O	Au	Ti	Ag
$E_{K\alpha 1}$ [keV]	0,277	0,525	---	4,511	---
$E_{K\beta 1}$ [keV]	---	---	---	4,932	---
E_{Mx} [keV]	---	---	1,661	---	---
$E_{M\alpha 12}$ [keV]	---	---	2,123	---	---
$E_{L\alpha 1}$ [keV]	---	---	9,713	---	2,984
$E_{L\beta 1}$ [keV]	---	---	---	---	3,151

Tab.A3: Die den EDX-Spektren zugeordneten spezifischen Röntgenlinien der Elemente C, O, Ti, Ag und Au (Abb.A10, Anhang).^{47,58,134}

2. CP/MAS Festkörper- ^{13}C -NMR-spektroskopische Untersuchungen

I_α - Modifikation	I_β - Modifikation	$I_{(\alpha+\beta)}$ - Modifikation	δ [ppm]
	C1_β		106,1
C1_α			105,3
	C1_{β^*}		104,2
C4_α			90,2
		$\text{C4}_{\alpha+\beta}$	89,3
	C4_{β^*}		88,4
	C4^1		83,7
C6_α			65,6
	C6_β		65,6
	C6_{β^*}		65,6
	C6^1		62,3
	C6^1		61,4

Tab.A4:.. Zuordnung der ^{13}C -chemischen Verschiebungen δ für die Kohlenstoffatome C1, C4 und C6 (Abb.17) unter der Berücksichtigung der Cellulose-Modifikation (1 es tritt ein zusätzlicher Strukturanteil in *never-dried* BNC auf, der durch nichtkristalline Cellulose-Ketten oder durch solche an der Kristallitoberflächen entsteht, die mit dem umgebenden Wasser wechselwirken).^{28,108,109}

3. Mechanische Eigenschaften

3.1. Probengeometrie zur Bestimmung der Zugeigenschaften

Probekörper-Geometrie	Typ 1A
Gesamtlänge l_3 [mm]	≥ 150
Länge des engen parallelen Teils l_1 [mm]	80 ± 2
Radius r [mm]	20 bis 25
Entfernung zwischen den breiten parallelen Teilen l_2 [mm]	104 bis 113
Breite an den Enden b_2 [mm]	$20,0 \pm 0,2$
Breite des engen Teils b_1 [mm]	$10,0 \pm 0,2$
bevorzugte Dicke h [mm]	$4,0 \pm 0,2$
Meßlänge l_0 [mm]	$50,0 \pm 0,5$
Anfangsabstand der Klemmen l [mm]	115 ± 1

Tab.A5: Vorgegebene Probekörpergeometrie vom Typ 1A zur Bestimmung von Zugeigenschaften.¹¹²

3.2. Einfluss der Prüfgeschwindigkeit auf die Zugfestigkeit von GX1

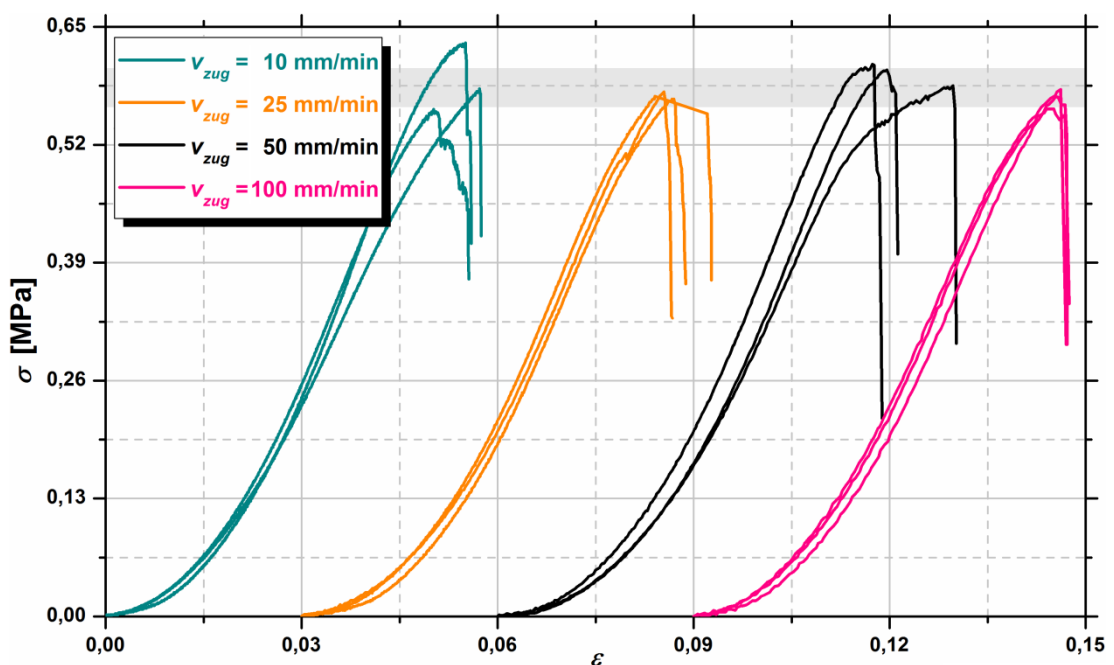


Abb.A11: Spannungs-Dehnungs-Diagramm von BNC des GX-Stamms GX1 in Abhängigkeit von der Deformationsgeschwindigkeit v_{zug} (zur besseren Darstellung der Graphen ist bei jeder Probenserie ein kumulativer X-Achsen-Versatz von $\varepsilon = 0,03$ hinzugefügt). Der hellgrau hinterlegte Bereich entspricht dem Bereich der Standardabweichung der durchschnittlichen Zugfestigkeit R_m der BNC von GX1.

3.3. Versagensmechanismus von BNC während der Zugfestigkeitstests

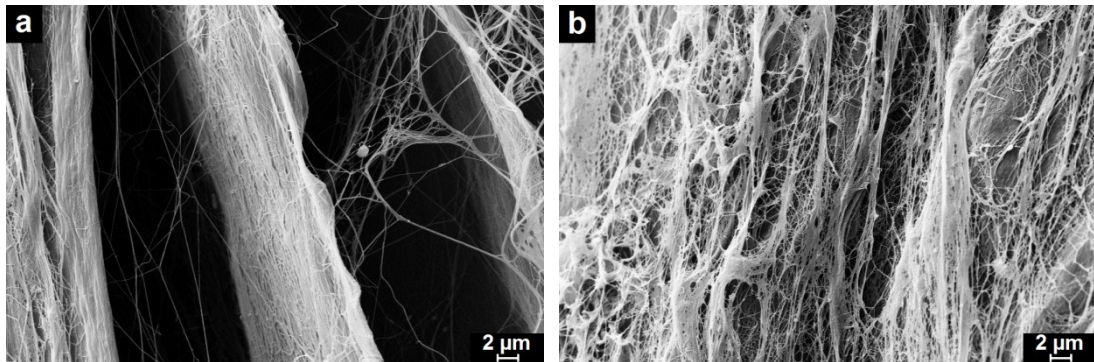


Abb.A12: REM-Aufnahmen der mittleren Schicht von den gefriergetrockneten BNC-Proben nach der Durchführung der Zugfestigkeitsuntersuchung von a) GX3 und b) GH1 bei 1000-facher Vergrößerung.

3.4. Kompressionsverhalten von BNC

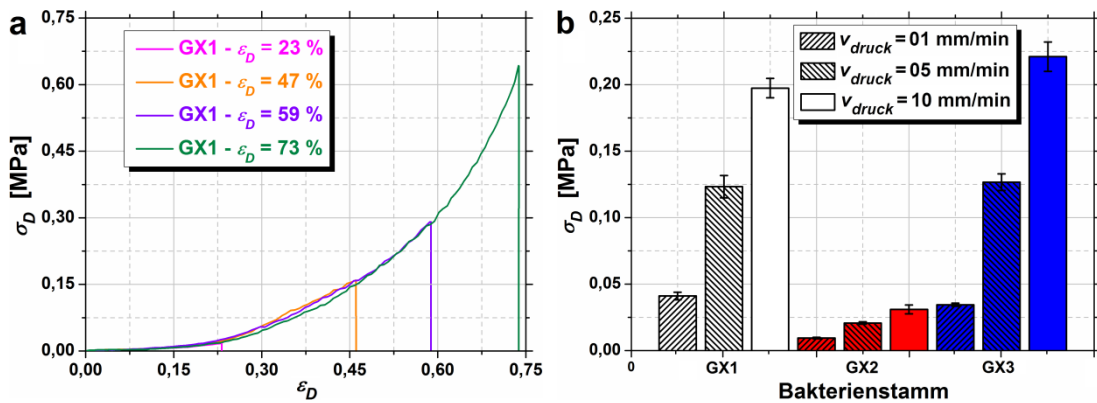


Abb.A13: a) Verlauf des Druckspannungs-Stauchungs-Diagramms von GX1 bei einer Stauchung ε_D von 23 %, 47 %, 59 % und 73 % sowie b) die Druckspannung von GX1, GX2 und GX3 bei einer Stauchung von 50 % und einer Kompressionsgeschwindigkeit v_{druck} von 10 mm/min (σ_{D50-10}), 5 mm/min (σ_{D50-05}) und 1 mm/min (σ_{D50-01}).

3.5. Einfluss der Kompressionsgeschwindigkeit auf die Druckspannung der BNC-TiO₂-Hybride

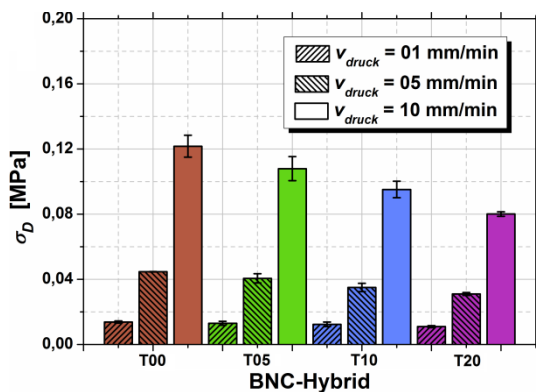


Abb.A14: Druckspannung der BNC-TiO₂-Hybride T00, T05, T10 und T20 bei 50 % Stauchung und einer Kompressionsgeschwindigkeit v_{druck} von 10 mm/min (σ_{D50-10}), 5 mm/min (σ_{D50-05}) und 1 mm/min (σ_{D50-01}).

4. Bestimmung der photokatalytischen Aktivität der Hybride

4.1. Methanol-Konversion

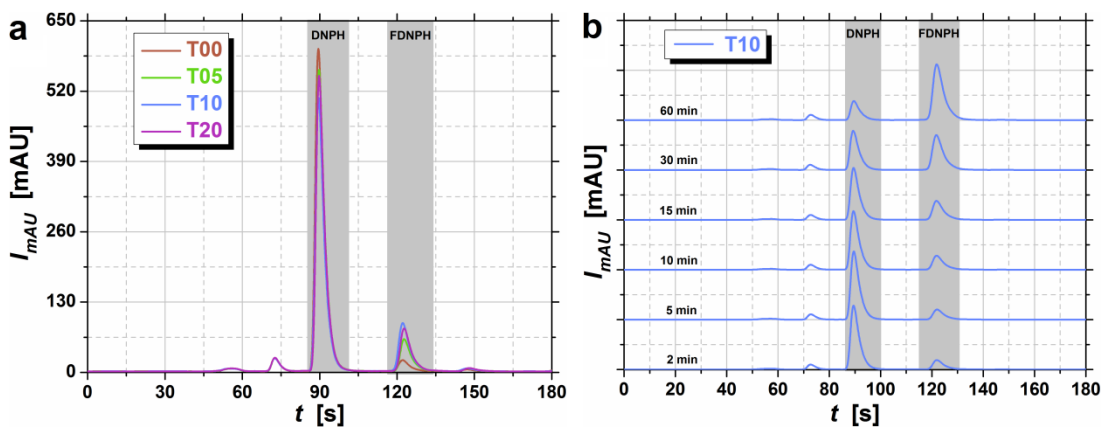


Abb.A15: a) Die im Rahmen des MK-Tests in Milli-Absorptions-Einheiten I_{mAU} bestimmten Intensitäten während der HPLC-Untersuchungen von den BNC-TiO₂-Hybriden T00, T05, T10 und T20 sowie b) die Abhängigkeit der DNPH- und FDNPH-Intensitäten von der Bestrahlungsdauer während des MK-Tests für den BNC-TiO₂-Hybrid T10. Die hellgrau hinterlegten Bereiche gehören zu den Retentionszeiten von DNPH und FDNPH.

4.2. Abbau von Methylenblau

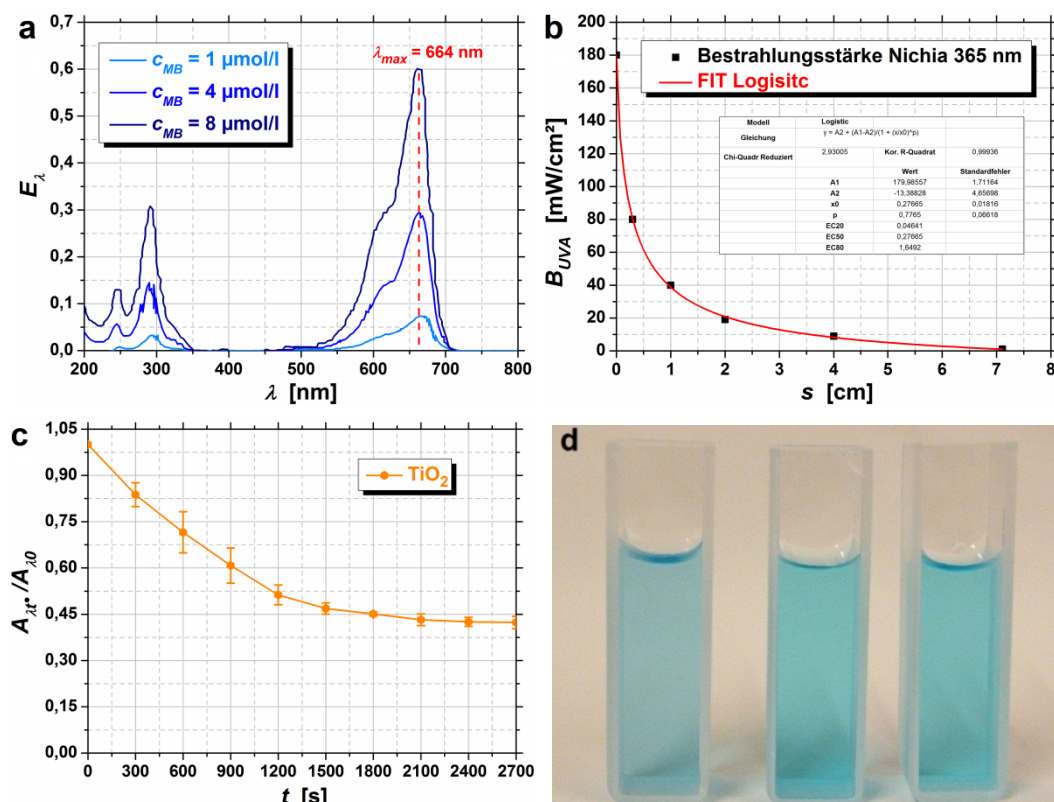


Abb.A16: a) UV-VIS-Absorptionsspektrum im Bereich von 200 nm bis 800 nm von MB in wässriger Lösung bei 3 verschiedenen Konzentrationen (maximale Extinktion bei $\lambda_{max} = 664$ nm), b) Bestrahlungsstärke B_{UVA} des Diodenarrays Nichia 365 nm als Funktion des Probenabstands s , c) zeitliche Veränderung der Absorbanz der Prüflösung $A_{\lambda t} / A_{\lambda 0}$ während des Abbaus von MB durch die Anatas-Nanopartikel und d) Photographie von den Küvetten mit MB-Testlösung nach der gleichlangen Bestrahlung von T10 (Mitte) und T20 (rechts) sowie deren weitere Entfärbung nach weiterer Bestrahlung (links).

5. XRD

5.1. BNC der *Gluconacetobacter*-Stämme

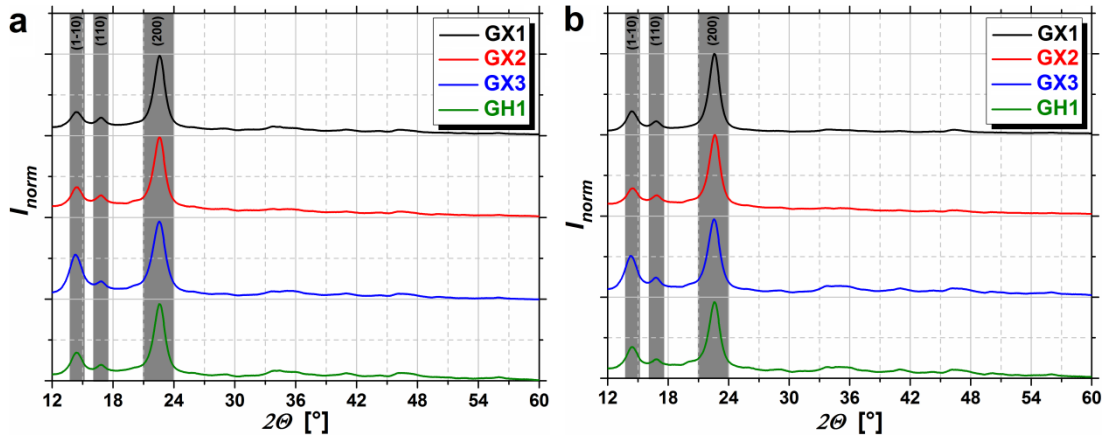


Abb.A17: Röntgenbeugungs-Diffraktogramme a) der oberen und b) der unteren Schicht von gefriergetrockneter BNC der 4 untersuchten Bakterienstämme GX1, GX2, GX3 und GH1 (die Bereiche von den Reflexen der Cellulose-Modifikation / sind dunkelgrau hinterlegt).

5.2. BNC-TiO₂-Hybride

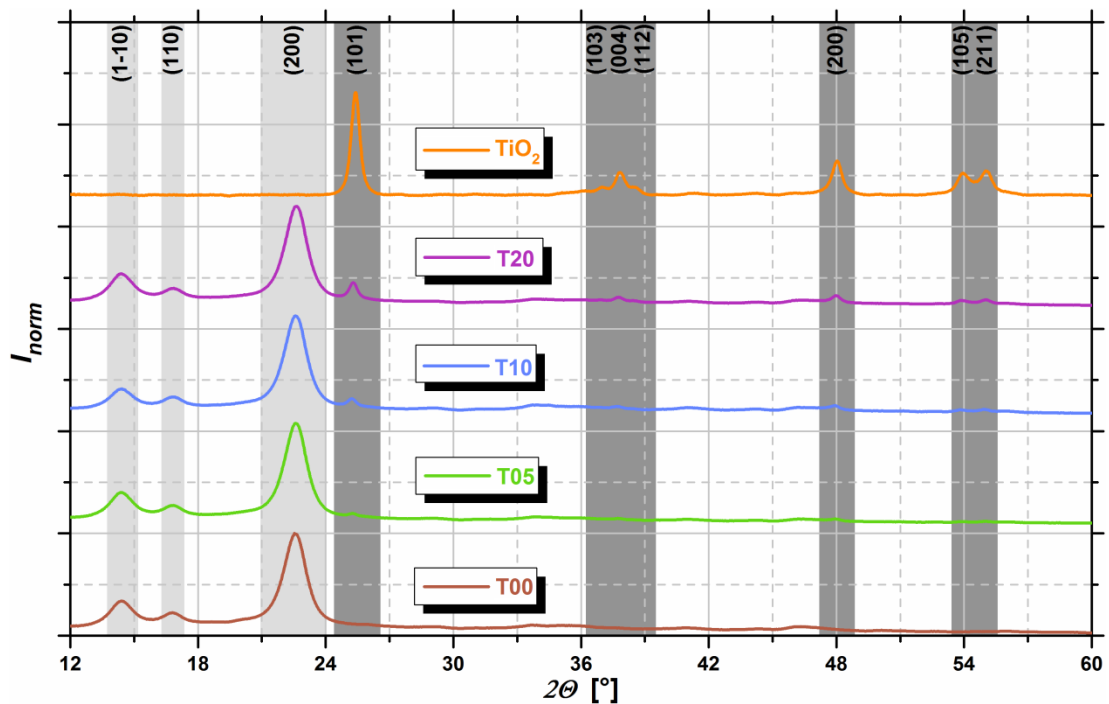


Abb.A18: Röntgenbeugungs-Diffraktogramme der oberen Schicht von den gefriergetrockneten BNC-TiO₂-Hybriden T00, T05, T10 T20 sowie von den LAVA-Nanopartikeln (die Bereiche von den Reflexen der Cellulose-Modifikation / sind hellgrau und die der Anatas-Modifikation sind dunkelgrau hinterlegt).

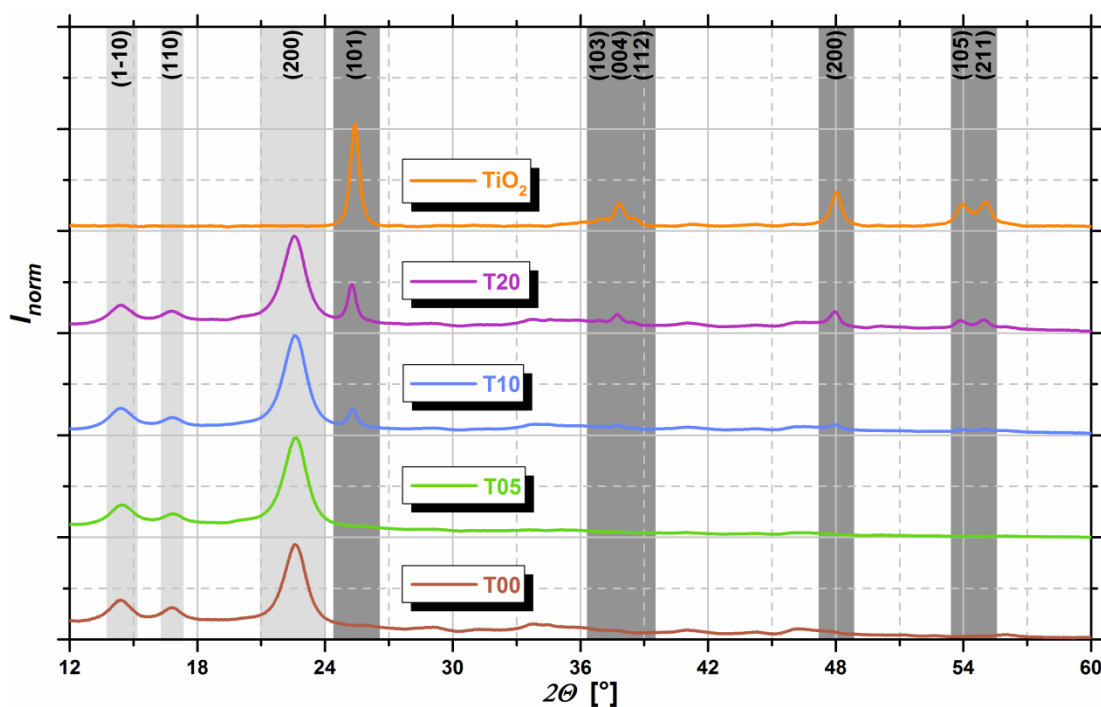


Abb.A19: Röntgenbeugungs-Diffraktogramme der unteren Schicht von den gefriergetrockneten BNC-TiO₂-Hybriden T00, T05, T10 T20 sowie von den LAVA-Nanopartikeln (die Bereiche von den Reflexen der Cellulose-Modifikation / sind hellgrau und die der Anatase-Modifikation sind dunkelgrau hinterlegt).

5.3. Ag-BNC-Hybride

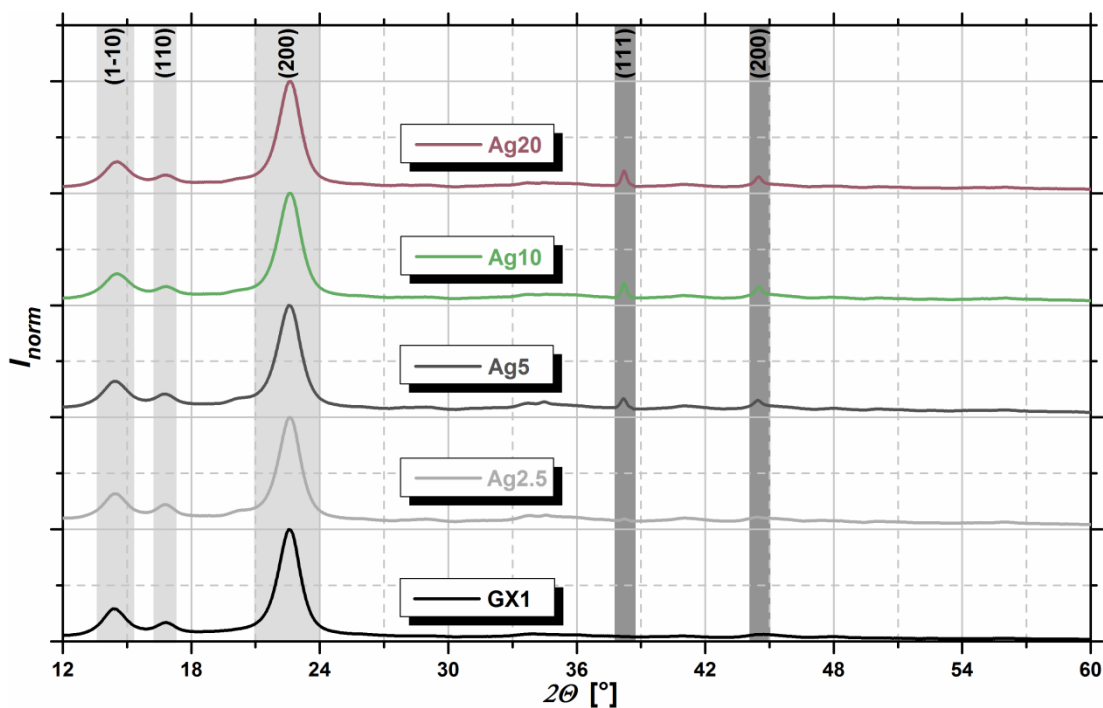
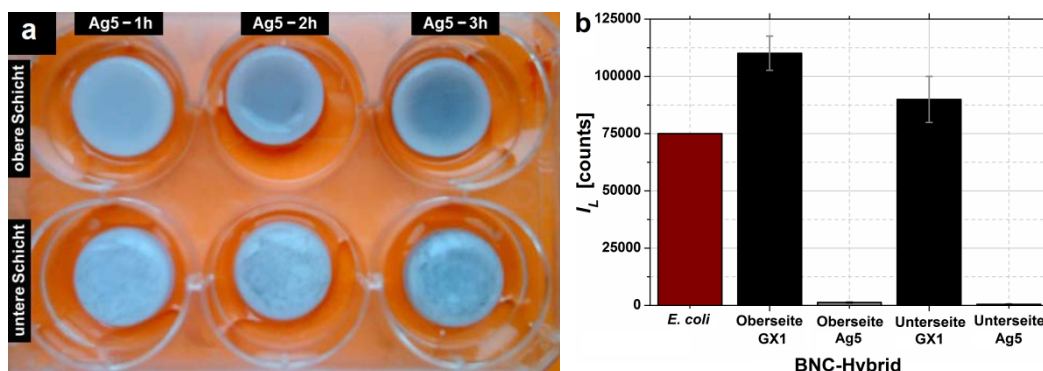
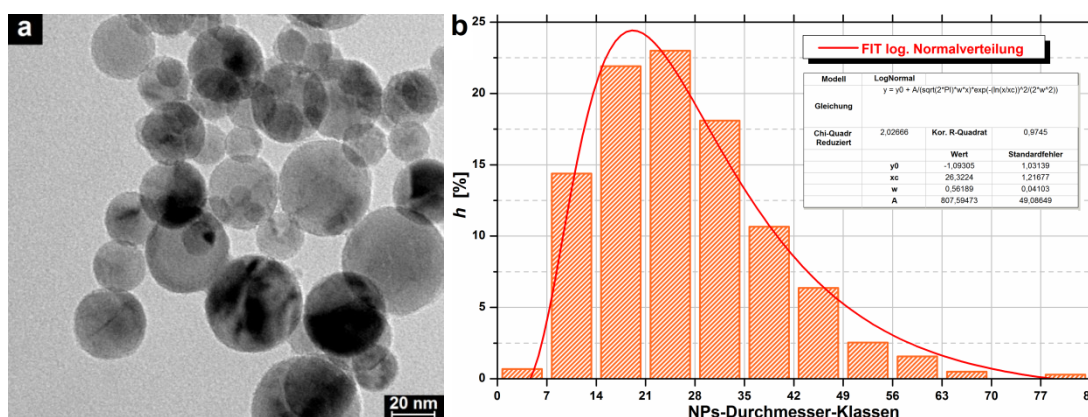


Abb.A20: Röntgenbeugungs-Diffraktogramme der unteren Schicht von den gefriergetrockneten Ag-BNC-Hybriden Ag2.5, Ag5, Ag10 und Ag20 sowie von BNC des Bakterienstamms GX1 (die Bereiche von den Reflexen der Cellulose-Modifikation / sind hellgrau und die des Silbers sind dunkelgrau hinterlegt).

6. Antimikrobielle Aktivität



7. Transmissionselektronenmikroskopische Untersuchungen



Probe	ν	γ	d_M [nm]	d_{NPs} [nm]	μ [nm]
TiO_2	0,84	0,90	25	26 ± 12	31 ± 2

Tab.A6: Berechnete Charakteristika der Häufigkeitsverteilung (Abb.A22, Anhang) von den zur Hybrid-Herstellung verwendeten Anatas-Nanopartikeln (Schiefe ν , Exzess γ , Median d_M , mittlerer Nanopartikel-Durchmesser d_{NPs} und Erwartungswert des Nanopartikel-Durchmessers μ).

8. Eigene Veröffentlichungen

8.1. Begutachtete Veröffentlichungen

F. Wesarg, F. Schlott, B. Sultanova, J. Grabow, H.-D. Kurland, N. Heßler, D. Kralisch und F.A. Müller: *In situ* Synthesis of Photocatalytically Active Hybrids Consisting of Bacterial Nanocellulose and Anatase Nanoparticles, *Langmuir* **28** [37] (2012), 13518-13525.

S. Berndt, F. Wesarg, C. Wiegand, D. Kralisch und F.A. Müller: Antimicrobial porous hybrids consisting of bacterial nanocellulose and silver nanoparticles, *Cellulose* (2012), accepted manuscript.

A. Müller, Z. Ni, N. Hessler, F. Wesarg, F.A. Müller, D. Kralisch und D. Fischer: The Biopolymer Bacterial Nanocellulose as Drug Delivery System: Investigation of Drug Loading and Release using the Model Protein Albumin, *J. Pharm. Sci.* (2012), DOI: 10.1002/jps.23385.

F. Kramer, D. Klemm, D. Schumann, N. Heßler, F. Wesarg, W. Fried und D. Stadermann: Nanocellulose Polymer Composites as Innovative Pool for (Bio)Material Development, *Macromol. Symp.* **244** [1] (2006), 136-148.

8.2. Konferenzbeiträge

8.2.1. Vorträge

F. Wesarg, S. Berndt, D. Kralisch und F.A. Müller: Functionalization of bacterial nanocellulose, EURO Bio-inspired Materials 2012, Potsdam, Deutschland, 20.03.-23.03.2012.

F. Wesarg, F. Schlott, B. Sultanova, J. Grabow, H.-D. Kurland, N. Heßler, D. Kralisch und F.A. Müller: Photokatalytisch aktive Hybridmaterialien auf Basis von bakteriell synthetisierter Nanocellulose und Anatas-Nanopartikeln, 7. Thüringer Grenz- und Oberflächentage 2011, Zeulenroda, Deutschland, 13.09.-15.09.2011.

F. Wesarg, N. Heßler, D. Kralisch, D. Klemm, W. Fried und F.A. Müller: Structural and mechanical properties of bacterial nanocellulose produced by different *Gluconacetobacter* strains, ACS 239th National Meeting & Exposition, San Francisco, CA, USA, 21.03.-25.03.2010.

A. Müller, S. Moritz, C. Wiegand, F. Wesarg, M. Munteanu, N. Hessler, D. Kralisch, F.A. Müller, U.-C. Hipler und D. Fischer: Characterization of Bacterial Nanocellulose as Drug Delivery System for Low and High Molecular Weight Drugs, Jahrestagung der Deutsche Pharmazeutische Gesellschaft e.V. 2012, Greifswald, Deutschland, 11.10.-13.10.2012.

D. Kralisch, N. Heßler, M. Munteanu, B. Sultanova, D. Klemm, R. Erdmann, W. Schmidt, F. Wesarg und F.A. Mueller: HoLiR - Continuous generation of planar bacteria-produced nanocellulose, ACS 241st National Meeting & Exposition, Anaheim, CA, USA, 27.03.-31.03.2011.

D. Klemm, F. Kramer, D. Schumann, N. Heßler, F. Wesarg und W. Fried: Bacterial cellulosebased nanocomposites with controlled cartilagelike mechanical properties, ACS 235th National Meeting & Exposition, New Orleans, LA, USA, 06.04.-10.04.2008.

D. Schumann, F. Kramer, D. Klemm, N. Heßler, F. Wesarg und W. Fried: Artificial vascular implants from bacterial synthesized cellulose, ACS 235th National Meeting & Exposition, New Orleans, LA, USA, 06.04.-10.04.2008.

F. Kramer, D. Klemm, D. Schumann, N. Heßler, F. Wesarg, W. Fried und D. Stadermann: Cellulose Composites: Topical Examples and Trends, 101. Hauptversammlung ZellCheming 2006, Wiesbaden, Deutschland, 26.06.-29.06.2006.

D. Klemm, U. Udhardt, D. Stadermann, F. Kramer, N. Hessler, W. Fried, F. Wesarg, D. Schumann und S. Marsch: Networks of Bacterial Cellulose and Synthetic Polymers Designed for Biomedical Applications, Gordon Research Conference - Chemistry of Polysaccharides, Hongkong, China, 05.06.-10.06.2005.

8.2.2. Poster

F. Wesarg, S. Berndt, D. Kralisch und F.A. Müller: Functionalization of bacterial nanocellulose, Tissue Regeneration Strategies and Innovative Biomaterials in Orthopaedic Surgery, Brighton, Großbritannien, 03.04.2012.

F. Wesarg, S. Berndt, D. Kralisch und F.A. Müller: Functionalization of bacterial nanocellulose, EURO Bio-inspired Materials 2012, Potsdam, Deutschland, 20.03.-23.03.2012.

F. Wesarg, N. Heßler, D. Kralisch, W. Fried und F.A. Müller: The influence of different *Gluconacetobacter* strains on the structural and mechanical properties of bacterial nanocellulose, 3rd Annual World Congress of Industrial Biotechnology 2010, Dalian, China, 25.07.-27.07.2010.

F. Wesarg, F. Kramer, D. Klemm, D. Schumann, N. Heßler und W. Fried: Das Potential von eigenschaftsgesteuerter bakterieller Nanocellulose für medizinische Anwendungen, Informationstag der FSU Jena 2008, Jena, Deutschland, 31.05.2008.

F. Wesarg, F. Kramer, A. Petrich, D. Klemm, D. Schumann und W. Fried: Biotechnologically formed nanocellulose for medical applications, Innovationstag Thüringen 2007, Erfurt, Deutschland, 14.11.2007.

A. Petrich, F. Kramer, F. Wesarg, D. Klemm, D. Schumann und W. Fried: Biotechnologically formed nanocellulose for medical applications, MEDICA 2007, Düsseldorf, Deutschland, 14.11.-17.11.2007.

D. Stachel, F. Wesarg, O. Tröber und D. Güttler: Kontaktwinkelmessungen an Glas auf unterschiedlichen Substraten an Luft bei höheren Temperaturen, 81. Glastechnische Tagung der Deutschen Glastechnischen Gesellschaft e.V., Aachen, Deutschland, 04.06.-06.06.2007.

F. Kramer, D. Klemm, D. Schumann, N. Heßler, F. Wesarg und W. Fried: Nanocellulose-Control of Biopolymer Architecture for Applications in Implants and Composite Materials, International Symposium on Biomaterials, Hamburg, Deutschland, 01.10.-04.10.2006.

F. Kramer, D. Klemm, D. Schumann, N. Heßler, F. Wesarg und W. Fried: Nanocellulose-Control of Biopolymer Architecture for Applications in Implants and Composite Materials, 1st European Chemistry Congress, Budapest, Ungarn, 27.08.-31.08.2006.

Danksagung

Im Besonderen bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. F. A. Müller für die Ermöglichung der Arbeit mit interessanter und anspruchsvoller Themenstellung. Er gewährte mir jederzeit, selbstständig zu arbeiten und zu entscheiden. Zudem stand er mir stets mit seiner fachlichen Kompetenz und einem persönlichen Rat zur Seite.

Spezielle Worte der Dankbarkeit gehen auch an Herrn PD Dr. W. Fried, der mir den Einstieg in das Gebiet der BNC ermöglicht hat und mich einen Großteil des Weges intensiv begleitet und bestmöglich unterstützt hat. Dabei möchte ich besonders auf die sehr angenehme Kombination aus fachlicher Kompetenz und väterlicher Fürsorge hinweisen.

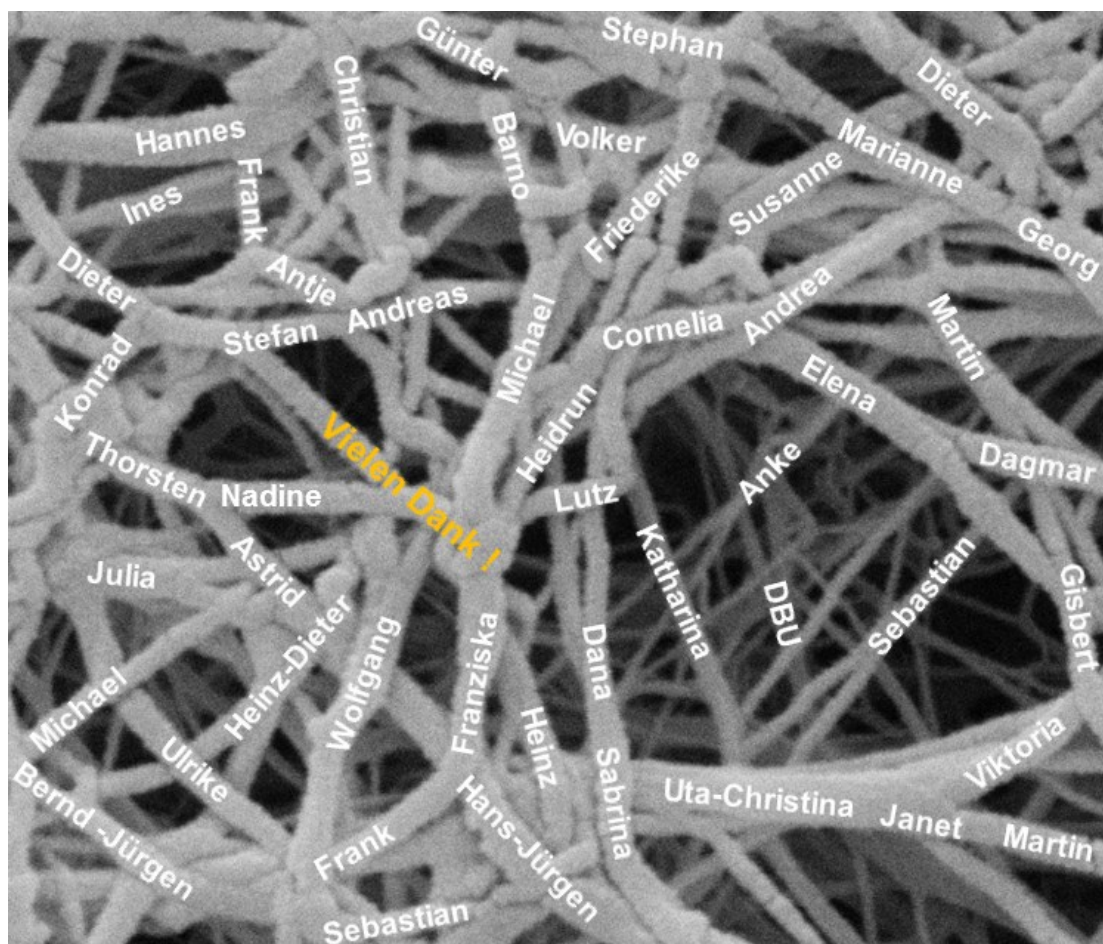
Mein besonderer Dank geht auch an Frau Dr. D. Kralisch und Frau Dr. N. Heßler. Beide konnte ich aufgrund ihrer enormen fachlichen Kompetenz und Erfahrung auf dem Gebiet der Polysaccharid-Chemie jederzeit mit Fragen und Problemstellungen löffern. Auch bauten sie mich gegeben falls wieder auf, wenn meine Motivation zu erlöschen drohte.

Weiterhin möchte ich mich bedanken bei:

- Herrn Dr. H.-C. Schaefer (Deutsche Bundesstiftung Umwelt) für die unkomplizierte und stets freundliche Zusammenarbeit im Rahmen des Promotionsstipendien-Programms,
- Frau D. Reichmann, Frau Dr. C. Wiegand und Frau PD Dr. U.-C. Hipler (Klinik für Hautkrankheiten, Universitätsklinikum Jena) für die Durchführung der Agar-Diffusionstests,
- Frau Dr. F. Schlott (Institut für Technische Chemie und Umweltchemie, Friedrich-Schiller-Universität Jena) für die Unterstützung bei den Methanol-Konversions-Untersuchungen,
- Herrn R. Zimmermann (INNOVENT e.V. Technologieentwicklung Jena) für die Durchführung der BacTiter-Glo™-Tests und der Plattentropf-Tests,
- Herrn Dr. H. Breitzke (Institut für Physikalische Chemie, Friedrich-Schiller-Universität Jena) für die CP/MAS Festkörper-¹³C-NMR-Spektroskopie-Messungen,
- Frau E. Pfaff und Herrn M. Munteanu (Institut für Technische Chemie und Umweltchemie, Friedrich-Schiller-Universität Jena) für die Unterstützung bei der Herstellung und Charakterisierung der BNC-Proben,
- Frau Prof. Dr. A. Potthast (Christian Doppler Labor für Moderne Cellulosechemie und -analytik, Universität für Bodenkultur Wien) für die GPC-Messungen,

- Frau H. Garlipp (Institut für Materialwissenschaft und Werkstofftechnologie, Friedrich-Schiller-Universität Jena) für die Unterstützung bei den REM-Untersuchungen,
- Frau S. Berndt für die Arbeiten bei der Herstellung der Ag-BNC-Hybride,
- Herrn L. Neumann (Institut für Materialwissenschaft und Werkstofftechnologie, Friedrich-Schiller-Universität Jena).

Da meine Tätigkeit am Institut für Materialwissenschaft und Werkstofftechnologie der Friedrich-Schiller-Universität durch ein sehr interdisziplinäres Arbeiten geprägt war, habe ich auf vielseitige Weise direkt und indirekt Unterstützung erhalten. Deshalb möchte ich mich bei allen Mitarbeitern der Arbeitsgruppen von Herrn Prof. Dr. F. A. Müller, Herrn PD Dr. W. Fried, Frau Dr. D. Kralisch, Frau Prof. Dr. D. Fischer, Frau PD Dr. U.-C. Hipler, Herrn Prof. Dr. G. Pohnert und Herrn Prof. Dr. D. Klemm, die im BNC-Netzwerk in Jena zusammenarbeiten, an dieser Stelle herzlich bedanken:



Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe Dritter angefertigt habe. Insbesondere habe ich hierfür nicht die entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- bzw. Beratungsdiensten in Anspruch genommen.

Ich habe für die Erstellung der Arbeit keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel verwendet. Alle aus Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe der Quelle gekennzeichnet.

Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Die an der Physikalisch-Astronomischen Fakultät geltende Promotionsordnung ist mir bekannt.

Ich versichere ehrenwörtlich, dass ich nach bestem Wissen die reine Wahrheit gesagt und nichts verschwiegen habe.

Jena, 10.01.2013

Falko Wesarg

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name Falko Wesarg
Geburtsdatum/-ort 27.02.1983, Gera

Beruflicher Werdegang

Seit 09/2010	Wissenschaftlicher Mitarbeiter in der AG Prof. Dr. F. A. Müller am Institut für Materialwissenschaft und Werkstofftechnologie (Friedrich Schiller Universität Jena)
06/2009 – 05/2012	Promotionsstipendiat der „Deutschen Bundesstiftung Umwelt“
10/2008 – 05/2009	Wissenschaftlicher Mitarbeiter in der AG PD Dr. W. Fried am Institut für Materialwissenschaft und Werkstofftechnologie (Friedrich Schiller Universität Jena)
10/2007 – 10/2008	EXIST Gründerstipendium (Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie)
08/2004 – 10/2007	Studentische Hilfskraft in der AG PD Dr. W. Fried am Institut für Materialwissenschaft und Werkstofftechnologie (Friedrich Schiller Universität Jena)
07/2003 – 10/2003	Praktikum bei der GEFO Folienbetrieb GmbH, Gera
09/2001 – 06/2002	Zivildienst: Ortsvereinigung Lebenshilfe e.V. Gera Stadt/Land

Bildungsweg

10/ 2002 – 10/2007	Studium der Werkstoffwissenschaften an der Friedrich Schiller Universität Jena (Abschluss: Dipl.-Ing., Note: 1,5, 24.09.2007)
09/1993 – 06/2001	Albert-Schweitzer-Gymnasium, Gera (Abschluss: Abitur, Note: 2,0, 22.06.2001)
09/1991 – 07/1993	Staatliche Grundschule 7, Gera
09/1989 – 07/1991	Helene-Fleischer Oberschule (Grundschule), Gera

Jena, 10.01.2013

Falko Wesarg